

**Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai

Der Einfluss von Polymorphismen des Prepronozizeptin-Gens auf
Schizophrenie und den kognitiven Endophänotyp Gedächtnisleistung

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Zora Valerie Young-Mi Autenrieth

aus Berlin

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Dan Rujescu
Mitberichterstatter:	PD Dr. rer. nat. Christof Haffner
Mitbetreuung durch die promovierte Mitarbeiterin:	PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling
Dekan:	Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel
Tag der mündlichen Prüfung:	18.07.2019

"Mögen hätt' ich schon wollen, aber dürfen hab ich mich nicht getraut!"

Karl Valentin

Meinen Eltern

1 EINLEITUNG	7
1.1 Schizophrenie.....	7
1.1.1 Definition und Historie	7
1.1.2 Klassifikationen und Symptomatik	9
1.1.3 Verlauf und Prognose	13
1.1.4 Epidemiologie.....	14
1.1.5 Ätiopathogenese	15
1.1.6 Neuropathologische und morphologische Veränderungen	26
1.1.7 Neurotransmitterhypothesen.....	28
1.2 Kognition und Gedächtnis	31
1.2.1 Konzept der Kognition und des Gedächtnisses	31
1.2.2 Kognitive Endophänotypen der Schizophrenie	35
1.3 Das PNOC-Gen	42
1.3.1 Genstruktur	42
1.3.2 Genprodukt Nozizeptin/ Orphanin FQ.....	44
1.3.3 Genprodukte Nozistatin und Orphanin FQ2 (OFQ-2)	53
1.4 Fragestellung.....	56
 2 MATERIAL UND METHODEN.....	 57
2.1 Studiendesign und Vorbedingungen der Studiendurchführung.....	57
2.2 Gesunde Studienteilnehmer	58
2.2.1 Auswahl gesunder Kontrollprobanden	58
2.2.2 Neurologische Untersuchung.....	59
2.2.3 Mini-Mental-State-Test.....	59
2.2.4 Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV	59

2.2.5	Family History Assessment Module	60
2.3	Studienteilnehmer mit Schizophrenie	60
2.3.1	Standardisierte Anamneseerhebung.....	60
2.3.2	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV	60
2.3.3	Family History Assessment Module	61
2.4	Die Wechsler Memory Scale Revised.....	61
2.4.1	Untertests der WMS-R.....	62
2.4.2	Auswertung der WMS-R	67
2.4.3	Statistische Gütekriterien der WMS-R	68
2.5	Laborverfahren.....	69
2.5.2	DNA-Extraktion	69
2.5.2	DNA-Quantifizierung	71
2.5.3	Genotypisierung.....	73
2.6	Statistische Auswertung	78
3	ERGEBNISSE	79
3.1	Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	79
3.1.1	Analyse des Polymorphismus' rs2722897	79
3.1.2	Analyse des Polymorphismus' rs1563945	80
3.1.3	Analyse des Polymorphismus' rs2722900	82
3.1.4	Analyse des Polymorphismus' rs2614100	83
3.1.5	Analyse des Polymorphismus' rs2280928	85
3.1.6	Analyse des Polymorphismus' rs351784	86
3.1.7	Analyse des Polymorphismus' rs904053	88
3.2	Endophänotypen- Studie.....	90
3.2.1	Analyse des Polymorphismus' rs2722897	90
3.2.2	Analyse des Polymorphismus' rs1563945	91
3.2.3	Analyse des Polymorphismus' rs2722900	94

3.2.4	Analyse des Polymorphismus' rs2614100	95
3.2.5	Analyse des Polymorphismus' rs2280928	97
3.2.6	Analyse des Polymorphismus' rs351784	99
3.2.7	Analyse des Polymorphismus' rs904053	100
3.3	Haplotypen.....	104
4	DISKUSSION	106
4.1	Übersicht und Interpretation der Ergebnisse.....	106
4.2	Diskussion der Methodik.....	108
4.3	Diskussion der Ergebnisse	115
4.4	Ausblick	121
5	ZUSAMMENFASSUNG	124
6	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	126
7	LITERATURVERZEICHNIS	128
8	DANKSAGUNG	147
9	LEBENS LAUF	148
10	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	149

1 EINLEITUNG

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende, psychiatrische Erkrankung, die unter Auftreten von akuten oder schleichenden Symptomen wie Wahnbildung, Halluzinationen oder kognitiven Störungen zu einer Desintegration der Persönlichkeit führt, so dass der Bezug zur eigenen Person sowie zur Umwelt massiv beeinträchtigt wird (Moran et al., 2016; Owen et al., 2016; Patel et al., 2014; Tandon, 2013). Sie betrifft knapp unter 1% der Weltbevölkerung und zählt unter anderem wegen eines frühen Erkrankungsbeginns und chronischer Verläufe zu den teuersten Krankheiten der westlichen Gesellschaft (Albayrak et al., 2015; Gaebel und Woelwer, 2010; Howes et al., 2015; Kotlar et al., 2015; Stilo und Murray, 2010). Bei ihrer weiterhin klärungsbedürftigen, multifaktoriellen Ätiopathogenese spielen sowohl Umwelt- als auch genetische Faktoren eine Rolle (Feigenson et al., 2014; Hida et al., 2013). Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien konnten bereits dazu beitragen, die hohe Heritabilität zu demonstrieren (Kotlar et al., 2015; Owen et al., 2004). Jedoch scheint die Erbllichkeit nicht den klassischen Mendelschen Regeln, sondern einem polygenen, multifaktoriellen Muster zu folgen (Birnbaum und Weinberger, 2013; Harrison, 2015; Hida et al., 2013; Schmitt et al., 2016).

Zu den Kernmerkmalen der Erkrankung zählen Defizite der Kognition (Ayuso-Mateos, 2013), zum Beispiel beeinträchtigte Gedächtnisleistungen, die in der Rolle eines Endophänotyps von Relevanz sein mögen (Chan und Gottesman, 2008; Patel et al., 2014; Ross et al., 2006).

1.1 Schizophrenie

1.1.1 Definition und Historie

Die Schizophrenie ist eine psychische Erkrankung, die dem Formenkreis der endogenen Psychosen zugerechnet wird. Sie umfasst eine heterogene Gruppe von Störungen, bei denen es sich um Erkrankungen handelt, die mit dem Auftreten charakteristischer, klinisch vielgestaltiger, psychopathologischer Querschnittsbilder mit Wahn, Halluzinationen, formalen Denkstörungen, Ich-Störungen, Affektstörungen und psychomotorischen Veränderungen einhergehen können (Moran et al., 2016; Patel et al., 2014). Charakterisiert ist die Schizophrenie durch psychotische

Symptome, kognitive Beeinträchtigung, funktionellen Zerfall und einen meist chronischen Verlauf (Falkai et al., 2015; Feigenson et al., 2014; Tandon, 2013).

Der französische Psychiater Bénédict Augustin Morel beschrieb 1852 eine psychiatrische Erkrankung junger Patienten als vorzeitige Demenz („*démence précoce*“), bei der die einstige jugendliche Aktivität durch eine akinetische Dumpfheit, Lethargie, emotionalen Rückzug, verschrobene Eigenarten und Selbstvernachlässigung ersetzt wird (Adityanjee et al., 1999; Jablensky, 2010). Ende desselben Jahrhunderts, im Jahre 1896, definierte der deutsche Psychiater Emil Kraepelin in seinem Lehrbuch die endogene Psychose „*Dementia praecox*“ als eine in jungen Jahren beginnende, chronische Krankheit mit kognitiven Einbußen und klassifizierte sie in drei Untereinheiten: in die Hebephrenie, die Katatonie und in die paranoid-halluzinatorische Form (Falkai et al., 2015; Rittmannsberger, 2012). Diese Einteilung der Subtypen wurde im Katalog Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV (DSM-IV) lange beibehalten. Kraepelin selbst veröffentlichte jedoch nie eine Liste definitiver diagnostischer Kriterien für die „*Dementia praecox*“ und war darauf bedacht Begriffe wie „*pathognomonische Symptome*“ zu vermeiden, da er die Ursprünge der Krankheitsentität in der Neuropathologie, Physiologie und Biochemie des Gehirns begründet sah (Jablensky, 2010).

Im Jahre 1911 machte der Schweizer Psychiater Eugen Bleuler bei der Beschreibung psychiatrischer Erkrankungen erstmalig von dem Begriff Schizophrenie Gebrauch, der sich aus dem Altgriechischen *σχίζειν* (spalten) und *φρήν* (Geist) ableitet (Gaebel und Woelwer, 2010).

Er nahm dabei Bezug auf den Symptomkomplex, der durch die von Emil Kraepelin aufgestellte Klassifikation endogener Psychosen bereits beschrieben worden war und versuchte damit deutlich zu machen, dass der Verlust der Kohärenz psychischer Vorgänge das Wesentliche der Erkrankung ist (Rittmannsberger, 2012). Die Bezeichnung Schizophrenie löste fortan den Terminus *Dementia praecox* ab und war nach Bleuler durch sogenannte Grund- und vorübergehende Symptome gekennzeichnet, die nicht zwangsläufig erstmalig in der Adoleszenz auftreten oder sich unvermeidlich als progredient erweisen mussten (Adityanjee et al., 1999). Zu den Grundsymptomen werden Assoziations- und Affektstörungen, Autismus und Ambivalenz gezählt; während Halluzinationen, Wahn und Katatonie die vorübergehenden, akzessorischen Symptome kennzeichnen (Maatz et al., 2015).

Durch den deutschen Psychiater Kurt Schneider wurde Mitte des 20. Jahrhunderts eine Einteilung in Symptome ersten und zweiten Ranges vorgenommen. Seitdem werden zu den Erstrangsymptomen das Hören von dialogischen Stimmen, das Lautwerden von Gedanken, Zöenästhesien im weiteren Sinne, die Eingebung, das Entziehen und das Ausbreiten von Gedanken, Willensbeeinflussung und Wahnwahrnehmungen gezählt. Zweitrangsymptome beinhalten akustische Halluzinationen, Halluzinationen anderer Sinnesebenen, Zoenästhesien im engeren Sinne und Wahneinfälle (Soares-Weiser et al., 2015; Tandon, 2013; Tabelle 1).

Tabelle 1: Symptome ersten und zweiten Ranges nach Schneider

	Symptome ersten Ranges	Symptome zweiten Ranges
Halluzinationen	<ul style="list-style-type: none"> - Akustisch: Kommentierende Stimmen, dialogisierende Stimmen - Leibliche Beeinflussungen 	<ul style="list-style-type: none"> - Akustisch: sonstige - Optisch - Olfaktorisch - Gustatorisch
Ich-Störungen	<ul style="list-style-type: none"> - Gedankeneingebung - Gedankenentzug - Gedankenausbreitung - Willensbeeinflussung 	<ul style="list-style-type: none"> - Gefühlsverarmung
Wahn	<ul style="list-style-type: none"> - Wahnwahrnehmung 	<ul style="list-style-type: none"> - Wahneinfall/-gedanke

1.1.2 Klassifikationen und Symptomatik

Es ist heute allgemein anerkannt, dass Schizophrenie nicht ein alleiniger Krankheitszustand, sondern vielmehr als eine komplexe Kategorie konzipiert ist, die wie beispielsweise Demenz, Epilepsie, Krebs oder Anämie mehrere Ursachen und Subtypen aufweisen und nahezu sämtliche psychische Funktionen beeinträchtigen kann (Feigenson et al., 2014; Rittmansberger, 2012). Dementsprechend können Symptome von an Schizophrenie Erkrankten sehr unterschiedlich ausfallen und sich dementsprechend klinisch präsentieren (Tandon, 2013).

Da es keinen spezifischen diagnostischen Test für diese heterogene Störung gibt, obliegt die Diagnosestellung einer klinischen Beobachtung und der präzisen Eruierung von Symptomen (Gejman et al., 2011; Schmitt et al., 2016; Steiner et al., 2013). Um dies zu gewährleisten, bestehen u.a. die beiden folgenden, vielfach eingesetzten Klassifikationssysteme:

Nach der von der World Health Organization (WHO) entwickelten International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Edition (ICD-10) lässt sich die Erkrankung in sieben Subtypen kategorisieren (Tabelle 2, S. 10).

Tabelle 2: Klassifikation der Subtypen der Schizophrenien gemäß ICD-10

Subtyp	ICD-Code	Vordergründige Symptomatik
Paranoide Schizophrenie	F20.0	Beständige Wahnvorstellungen; oft akustische Halluzinationen, Wahrnehmungsstörungen
Hebephrene Schizophrenie	F20.1	Affektive Veränderungen
Katatone Schizophrenie	F20.2	Psychomotorische Störungen
Undifferenzierte Schizophrenie	F20.3	F20.0-F.20.3 nicht zuordenbar oder >1 Subtyp zuordenbar
Postschizophrene Depression	F20.4	Depressive Episode bei schizophrener Grunderkrankung
Schizophrenes Residuum	F20.5	Negativsymptomatik
Schizophrenia simplex	F20.6	Schleichende Progredienz eines merkwürdigen Verhaltens

Von der American Psychiatric Association wurde das Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) entwickelt, welches seit Mai 2013 in der 5. Edition (DSM-V) vorliegt. Im DSM-V kommt es im Vergleich zur Vorversion DSM-IV (Tabelle 3, S. 11) zu einer Abschaffung der klassischen Subtypen der Schizophrenie (Albayrak et al., 2015; Tabelle 4, S. 11). Eingeführt wurden spezielle psychopathologische Dimensionen für eine Schweregradeinschätzung der wichtigsten Symptome auf einer fünfteiligen Skala (Rittmannsberger, 2012). Weiterhin wurde im DSM-V die besondere Rolle der Erstrangsymptome nach Schneider aufgegeben und eine höhere Trennschärfe zu schizoaffectiven Störungen gezogen (Tandon, 2013). Demnach ist bei einer Person, bei der klinisch Erstrangsymptome vorliegen, Schizophrenie nur eine von mehreren potentiellen Diagnosen einer psychotischen Erkrankung.

So bestätigen in einem Cochrane Review zusammengefasste Studien, dass bei Menschen, die tatsächlich an Schizophrenie leiden, anhand der Erstrangsymptome nur knapp die Hälfte von ihnen richtig als an Schizophrenie erkrankt diagnostiziert werden konnten, während annähernd 20% fälschlicherweise diese Diagnose erhielten (Soares-Weiser et al., 2015).

Ferner wurde die Vorversion DSM-IV durch das „attenuierte Psychosesyndrom“ als Krankheitsbild ergänzt; entfallen ist dagegen die gemeinsame psychotische Störung im Sinne einer Folie à deux (Paulzen und Schneider, 2014, Tandon, 2013). Eine weitere Neuerung des DSM-V fordert das Vorliegen von zwei Hauptsymptomen (vormals: ein Hauptsymptom), wobei eines davon Wahn, Halluzinationen oder desorganisierte Sprachweise sein muss (Ehret und Berking, 2013).

Tabelle 3: Subtypen der Schizophrenie nach DSM-IV Klassifikation

Subtyp	DSM-IV Codierung
Paranoider Typus	295.30
Desorganisierter Typus	295.10
Katatoner Typus	295.20
Undifferenzierter Typus	295.90
Residualer Typus	295.60

Tabelle 4: Schizophrenes Spektrum nach DSM-V

Bezeichnung	DSM-V Codierung	Klinisches Erscheinungsbild
Schizophreniforme Störung	295.40	Subsyndromale schizophrene Störung über Zeitraum > 1 Monat, < 6 Monate
Schizophrenie	295.90	Zwei oder mehr psychotische Symptome über Zeitraum > 6 Monate
Schizoaffective Störung	295.70	Ununterbrochen bestehende psychotische Symptome und gleichzeitige affektive Episode
Schizotype Störung	301.22	Muster aus sozialen und zwischenmenschlichen Defiziten, Verzerrungen des Denkens und Wahrnehmens

Nach beiden Systemen, ICD-10 und DSM-IV bzw. DSM-V, lassen sich die Symptome kategorisieren. Gemäß der ICD-10 Klassifikation wird eine Einteilung der Symptomatik in neun Gruppen vorgenommen. Für die Diagnosestellung ist entweder ein eindeutiges Symptom der Gruppen 1-4 (bzw. zwei Symptome bei geringerer Eindeutigkeit) oder mindestens zwei Symptome der Gruppen 5-8 erforderlich, die unbehandelt nahezu ständig innerhalb eines Monats oder länger vorliegen. Bei Vorliegen einer eindeutigen Hirnerkrankung oder Intoxikation oder während eines Entzugssyndroms ist die Diagnose nicht zu stellen (Tabelle 5, S. 12).

Tabelle 5: Einteilung der Symptomatik der Schizophrenie gemäß ICD-10

Gruppe	Symptomatik
1	Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung oder Gedankenentzug, Gedankenausbreitung
2	Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, deutlich bezogen auf Körper- oder Gliederbewegungen oder bestimmte Gedanken, Tätigkeiten oder Empfindungen; Wahnwahrnehmungen
3	Kommentierende oder dialogische Stimmen, die über den Patienten und sein Verhalten sprechen, oder andere Stimmen, die aus einem Teil des Körpers kommen
4	Anhaltender, kulturell unangemessener oder völlig unrealistischer (bizarrer) Wahn wie der, eine religiöse oder politische Persönlichkeit zu sein, übermenschliche Kräfte und Fähigkeiten zu besitzen
5	Anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität, begleitet entweder von flüchtigen oder undeutlich ausgebildeten Wahngedanken ohne deutliche affektive Beteiligung oder begleitet von anhaltenden überwertigen Ideen, täglich über Wochen oder Monate auftretend
6	Gedankenabreißen oder Einschiebungen in den Gedankenfluss, was zu Zerfahrenheit, Danebenreden oder Neologismen führt
7	Katatone Symptome wie Erregung, Haltungstereotypen oder wächserne Biegsamkeit (Flexibilitas cerea), Negativismus, Mutismus und Stupor
8	Negative Symptome wie auffällige Apathie, Sprachverarmung, verflachte oder inadäquate Affekte, zumeist mit sozialem Rückzug und verminderter sozialer Leistungsfähigkeit, nicht durch Depression oder neuroleptische Medikation verursacht
9	Eindeutige und durchgängige Veränderung bestimmter umfassender Aspekte des Verhaltens der betreffenden Personen, die sich in Ziellosigkeit, Trägheit, einer in sich selbst verlorenen Haltung und sozialem Rückzug manifestiert

Ein Überblick der diagnostischen Kriterien laut DSM-V ist in Tabelle 6 dargestellt und entspricht weitestgehend der Vorversion des DSM-IV. Zur Diagnosesicherung müssen zwei charakteristische Symptome des Kriterium A vorliegen. Darunter müssen Wahn, Halluzinationen oder desorganisierte Sprechweise sein (Ehret und Berking, 2013). Im Gegensatz zum ICD-10, in dem die floride Phase fast ständig für mindestens einen Monat vorliegt, beträgt im DSM-V die Minstdauer der Symptomatik kontinuierlich 6 Monate, inklusive prodromaler, florider und residualer Episoden (Tabelle 6, S. 13).

Tabelle 6: Überblick Diagnostische Kriterien der Schizophrenie gemäß DSM-V

Diagnostisches Kriterium	Kennzeichen
A	Charakteristische Symptome: <ul style="list-style-type: none"> - Wahn - Halluzinationen - Desorganisierte Sprechweise - Grob desorganisiertes oder katatones Verhalten - Negativsymptome
B	Soziale/ berufliche Leistungseinbußen: Das zu erwartende Niveau zwischenmenschlicher, geistlicher oder beruflicher Leistungen wird nicht (mehr) erreicht.
C	Dauer: Zeichen des Störungsbildes halten für mindestens 6 Monate an.
D	Ausschluss von schizoaffektiver und affektiver Störung
E	Ausschluss von Substanz Einfluss/ medizinischem Krankheitsfaktor: Das Störungsbild ist weder medikamenten- oder drogeninduziert noch durch einen somatischen Krankheitsfaktor hervorgerufen.
F	Verhältnis zu allgemeiner Entwicklungsverzögerung oder Autismusspektrumstörung: Bei autistischer oder anderer tiefgreifender Entwicklungsstörung in der Vorgeschichte erfolgt die Diagnosesicherung nur bei vorliegendem Wahn oder Halluzinationen über einen Monat (oder weniger sofern behandelt)

Die 1987 von Kay et al. entwickelte Positive- and Negative-Syndroms Scale (PANSS) stellt ebenfalls eine Möglichkeit zur Einteilung schizophrener Symptome dar (Kay et al., 1987). Negativsymptome sind dabei schwerer als ein Teil der Erkrankung zu erkennen, da sie z. B. als Depression missverstanden werden können (Tandon, 2013).

1.1.3 Verlauf und Prognose

Die Manifestation schizophrener Störungen zeigt sich meist in der Adoleszenz bzw. im frühen Erwachsenenalter (Soares-Weiser et al., 2015). Eine vorausgehende Prodromalphase ist nicht obligat, wäre aber typischerweise durch verminderte kognitive Leistungen, Stimmungslabilität, Verhaltensauffälligkeiten, abgeschwächte positive Symptome und sozialen Rückzug gekennzeichnet (Owen et al., 2016;

Mossaheb et al., 2006). Ihre Dauer variiert, wobei es nach durchschnittlich fünf Jahren zum Übertritt in die Akutphase kommt (Klosterkötter et al., 2008).

Mit Beginn der Akutphase präsentiert sich der Ausbruch der Erkrankung als eine psychotische Phase mit ausgeprägter Positivsymptomatik und bedient das charakteristische Kriterium A nach DSM-V (American Psychiatric Association, 2011). Die Diagnosestellung erfolgt nach den nosologischen Kriterien von ICD-10 oder DSM bei über einen längeren Zeitraum bestehender Symptomatik (Soares-Weiser et al., 2015). Es kommt zu einem Leistungs- und Funktionsabfall, der sich in der anschließenden Residualphase wieder rehabilitiert. Nach Abklingen der akuten Phase wird in ihr das Bild durch Negativsymptomatik beherrscht. Es kommt jedoch häufig zu einer chronischen Residualsymptomatik mit bleibenden Einschränkungen. Mehr als 50% aller Erkrankten erleben einen ungünstigen Krankheitsverlauf mit Rezidiven, Residualsymptomen und erheblich beeinträchtigter, sozialer Integration (Broome et al., 2005; Schennach et al., 2015). Allerdings ist auch ein Ende der Erkrankung mit *restitutio ad integrum* oder partieller Besserung prinzipiell in jedem Stadium möglich, jedoch individuell schwer voraussagbar (Harrison et al., 2001).

Gegenüber der Allgemeinbevölkerung weisen Schizophreniepatienten eine erhöhte Mortalitätsrate auf (Meyer und Nasrallah, 2009; Stilo und Murray, 2010). Eine 37 Studien aus 25 Ländern umfassende Metaanalyse erbrachte ein geschlechterunspezifisches, 2,5-fach erhöhtes Risiko für Erkrankte zu versterben (Saha et al., 2007). Einerseits lässt sich diese Tatsache auf eine erhöhte Unfallhäufigkeit (Brown et al., 2000; Saha et al., 2007) sowie gehäufte psychiatrische und somatische Komorbiditäten (insbesondere kardiovaskuläre Erkrankungen) zurückführen, andererseits liegt die Suizidrate bei Schizophreniepatienten mit bis zu 10% sehr hoch (Gaebel und Woelwer, 2010; McGrath et al., 2008).

1.1.4 Epidemiologie

Die Lebenszeitprävalenz an Schizophrenie zu erkranken, liegt durchschnittlich bei 0,7%, (Janoutová et al., 2016; Tandon et al., 2008). In einem Review von McGrath und Kollegen wurde metaanalytisch eine Inzidenz von 15,2/ 100.000 mit einer Spannbreite von 7,7-43,0/ 100.000 ermittelt (McGrath et al., 2004).

Der stärkste Prädiktor, die Krankheit zu entwickeln, ist eine erkrankte Person im Kreis unter den Familienangehörigen ersten Grades (Waddington et al., 2007). Die Heritabilität beträgt bis zu 80% (Greenwood et al., 2013): Sofern ein Elternteil an

Schizophrenie leidet, beträgt die Wahrscheinlichkeit, dass der Nachwuchs erkrankt 13%; leiden beide Elternteile daran, liegt sie >20% (Janoutová et al., 2016; Kotlar et al., 2015) bzw. bis zu 40% (Patel et al., 2014).

Im Gegensatz zu früheren Auslegungen zeigte sich eine variierende Inzidenz zwischen verschiedenen geographischen Standorten (McGrath et al., 2008). Eine vormals angenommene, weltweit einheitliche Verteilung und Häufigkeit der Erkrankung, unabhängig von der geographischen Lage, wird nicht mehr angenommen (Stilo und Murray, 2010). Die altersstandardisierte Inzidenz im Jahre 2000 lag laut WHO bei Männern pro 100.000 zwischen 15,0 in Europa und 25,8 in Sri Lanka, während sie sich bei Frauen zwischen 13,6 in Australien/ Neuseeland/ Japan und 26,4 in Sri Lanka befand (Ayuso-Mateos, 2013). In Deutschland werden etwa 19 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner jährlich diagnostiziert (Gaebel und Woelwer, 2010).

Eine erhöhte Inzidenz wurde bei Bewohnern urbaner Regionen im Vergleich zu Bewohnern gemischt städtisch/ländlicher Gebiete festgestellt (Kirkbride et al., 2007; McGrath et al., 2004; Stilo und Murray, 2010). Ebenfalls wurde dies bei Personen mit Migrationshintergrund im Vergleich zu Einheimischen beobachtet (Selten et al., 2013).

Das Ersterkrankungsalter liegt zwischen 15 und 35 Jahren, wobei Männer im Durchschnitt einige Jahre früher als Frauen erkranken (Kotlar et al., 2015; Patel et al., 2014). Das Verhältnis von erkrankten Männern zu erkrankten Frauen beträgt 1,4:1 (McGrath et al., 2008). Insbesondere bei jungen Männern prägen sich schwerere Verlaufsformen aus (Stilo und Murray, 2010). Diese Befunde bekräftigen die Vermutung über eine mögliche neuroprotektive Wirkung des Hormons Östrogen (McGrath et al., 2008; Häfner, 2003), zumal Frauen mit Abnahme der Östrogenproduktion während des Präklimakteriums diesen Schutz zu verlieren scheinen (Häfner, 2003).

1.1.5 Ätiopathogenese

Die exakten Mechanismen der Ätiologie der Schizophrenie konnten bislang nicht aufgeklärt werden (Allen et al., 2009; Patel et al., 2014). Es wird jedoch eine multifaktorielle Genese angenommen, bei der mehrere Teilauslöser einzubeziehen sind, die jeweils unterschiedliche Relevanz haben können (Hida et al., 2013; Moran et al., 2016). Genetische Faktoren spielen hierbei eine sehr wichtige Rolle und

können die Schizophrenie vermitteln und beeinflussen, jedoch nicht determinieren (Harrison, 2015; Riley und Kendler, 2006).

Eine erhöhte Vulnerabilität kann durch genetische und/ oder durch exogene Faktoren pränatal oder perinatal entstehen und zu hirnstrukturellen Veränderungen führen (Hida et al., 2013). Dies stellt eine Disposition zur Manifestation der Erkrankung dar und wird als Phase einer Neuroentwicklungsstörung bezeichnet (Murray und Lewis, 1987). Nach der „Two-Hit-Hypothese“ beeinträchtigt dieser frühe, genetisch- oder umweltbedingte, sogenannte „First-Hit“ einige Aspekte der Gehirnentwicklung und schärft das Nervensystem für einen potentiell folgenden „Second-Hit“ (beispielsweise in Form einer Exposition gegenüber Drogenkonsum oder psychosozialem Stress), der konsekutiv das Krankheitsbild hervorruft (Hida et al., 2013; Maynard et al., 2001). Ohne Behandlung kann sich daraus ein neurodegeneratives Geschehen entwickeln, welches durch glutaminerg und dopaminerg vermittelter Exzitotoxizität und oxidativem Stress als „Third-Hit“ den Übergang von der akuten Psychose zu einem Defizitsyndrom darstellt (McGrath et al., 2003; Abbildung 1, S. 17).

Somit liefert die genetische Suszeptibilität verbunden mit einem Ereignis in der Entwicklung die Voraussetzung für eine Empfänglichkeit des Individuums für ein späteres Geschehen, welches letztlich zum Ausbruch des vollen klinischen Syndroms führt (Feigenson et al., 2014; Owen et al., 2016).

Die umweltbedingten, exogenen sowie die endogenen, genetischen Risikofaktoren in verschiedenen Lebensabschnitten können die Suszeptibilität für Schizophrenie beeinflussen (Brown, 2011; Tandon et al., 2008) und sollen im Folgenden zusammengefasst werden.

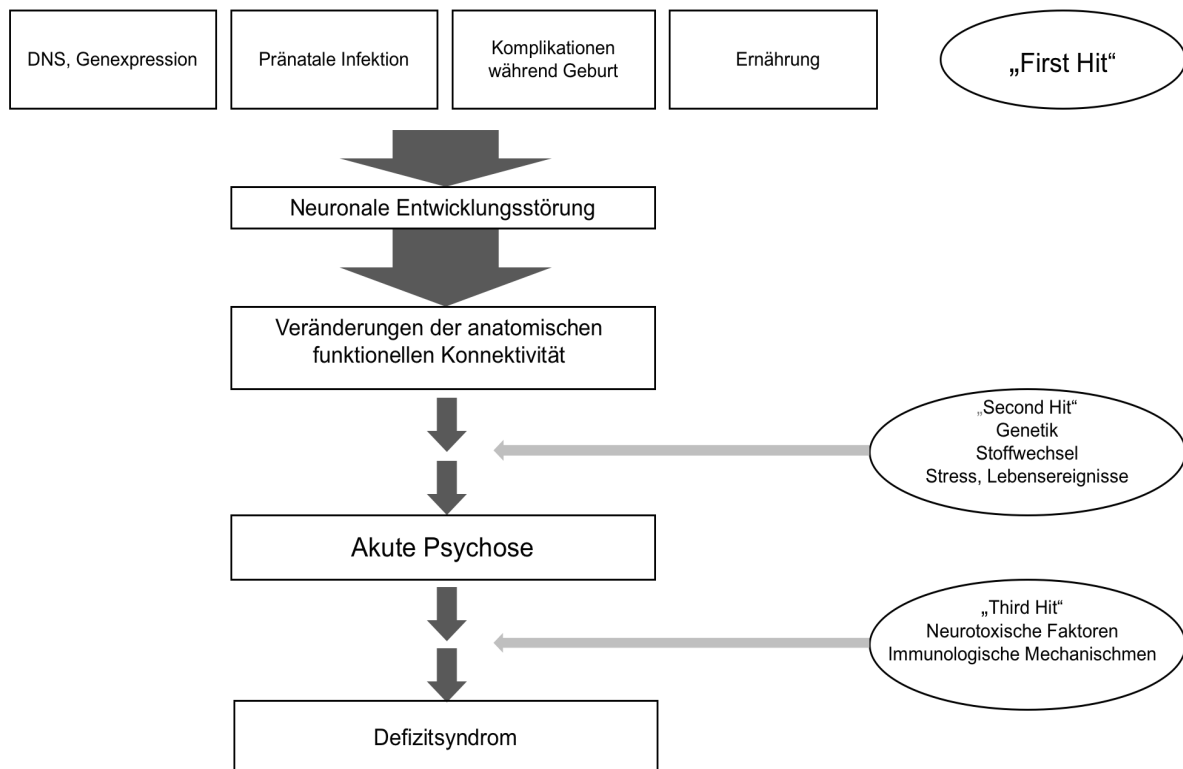


Abbildung 1: Entstehung psychotischer Symptomatik und Fortschreiten der Psychose

1.1.5.1 Psychosoziale Faktoren

Das Auftreten belastender Lebensereignisse wird etwa seit der letzten Dekade des vergangenen Jahrhunderts mit dem Ausbruch bzw. einer Exazerbation der Schizophrenie oder anderen psychotischen Störungen beobachtet und damit in Zusammenhang gebracht (Hida et al., 2013; Stilo und Murray, 2010). Diese negativ erlebten Begebenheiten können stärkere Stressoren sein, z. B. Auszug aus dem Elternhaus, Missbrauch, Wechsel des Arbeitsplatzes, Eheschließung, Todesfall oder Kriminalität; sie können sich aber auch summierend aus mehreren einzelnen, weniger intensiven Faktoren zusammensetzen (Tessner, 2011). Nach diesem sogenannten Modell der Stress-Diathese wird angenommen, dass eine psychosoziale Belastung einen von mehreren Risikofaktoren darstellt, die zum Ausbruch, einer Verschlimmerung oder einem Rezidiv der Erkrankung führen (Fowles, 1992). Die Symptomatik scheint sich dabei je nach Art des Stresses zu präsentieren.

Auch die soziale Schicht stellt einen Einflussfaktor dar (Stilo und Murray, 2010). Nach der Drift-Hypothese besitzen Schizophreniepatienten schon vor Ersterkrankung einen

niedrigeren gesellschaftlichen Stand als für ihre grundsätzliche Intelligenz und ihr familiäres Milieu anzunehmen wäre und steigen anschließend tendenziell weiter ab (Dunham, 1965). Die soziale Dysfunktion zeigt sich im weiteren Verlauf der Erkrankung bei Männern häufig in einer ausgeprägteren Form als bei prämenopausalen Frauen, die durchschnittlich eine höhere Tendenz zu Compliance und gesellschaftlicher Anpassungsfähigkeit zeigen (Häfner, 2003). Entsprechend der 2005 veröffentlichten „Social-Defeat-Hypothese“ kann eine langfristige Exposition gegenüber einer solchen sozialen Dysfunktion eine Sensibilisierung des mesolimbischen dopaminergen Systems zur Folge haben und dadurch das Risiko für einen Krankheitsausbruch erhöhen (Selten et al., 2013).

Das verspätete Erreichen verschiedener Meilensteine des Heranwachstums (beispielsweise der Sprachentwicklung), einige prämorbid Defizite in der Kindheit und Adoleszenz (kognitiven, physischen oder sozialen Ursprungs) wurden ebenfalls mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für eine Entwicklung der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht (Keshavan et al., 2005; Kinney et al., 2009; Owen et al., 2016). Ob diese beeinträchtigenden Defizite nun Risikofaktoren für die Entwicklung der Erkrankung oder lediglich frühe Manifestationen derselben darstellen, ist jedoch unklar (Tandon et al., 2008).

1962 wurde durch Brown et al. das Konzept der Expressed Emotions eingeführt, das anhand der Beschreibung von emotionalen Ausdrucksweisen von Familienangehörigen auf den Krankheitsverlauf bei psychiatrischen Erkrankungen rückschließen lässt (Brown et al., 1962). Die Hypothese, dass hohe Expressed Emotions (Kritik, Feindseligkeiten und emotionales Überengagement) von nahen Angehörigen die Entwicklung eines Schizophrenie-Rezidivs fördert, konnte in einer Metaanalyse bestätigt werden (Butzlaff und Hooley, 1998). Es sollte hierbei jedoch berücksichtigt werden, dass das Verständnis und die Bedeutung von ausgedrückten Gefühlen interkulturell zwischen unterschiedlichen Ethnien variieren mögen (Cheng, 2002).

1.1.5.2 Prä-/ perinatale Komplikationen und immunologische Faktoren

Es werden mehrere prä- und perinatale Komplikationen diskutiert, die das Erkrankungsrisiko für Schizophrenie erhöhen können (Hida et al., 2013; Stilo und Murray, 2010). Dazu zählen unter anderem präpartale Infektionen/ Aktivierung des Immunsystems, hypoxieabhängige, geburtshilfliche Komplikationen, Blutungen,

Gestationsdiabetes oder eine Mangelernährung der Mutter während der Schwangerschaft (Hida et al., 2013; Moran et al., 2016; Patel et al., 2014).

Brown und Derkits untersuchten 2010 den Zusammenhang zwischen pränataler, maternaler Exposition zu Infektionen und Schizophrenie beim Nachwuchs. In der Betrachtung von Influenza Infektionen während der Schwangerschaft fanden sie eine dreifache Risikoerhöhung bei viraler Exposition in der ersten Schwangerschaftshälfte und eine siebenfache während des ersten Trimenons, während eine Exposition in der zweiten Schwangerschaftshälfte folgenlos erschien (Brown und Derkits, 2010). Der beeinflussende Effekt einer Influenza-Infektion in der Schwangerschaft konnte in weiteren Studien mehrfach belegt werden (Byrne et al., 2007). Es wurden jedoch auch weitere Infektionen, beispielsweise diejenigen durch Zytomegalie-, Röteln-, Coxsackie B5-, Herpes Simplex-2- Viren, die Toxoplasmose, eine Gonokokkeninfektion und eine Infektion des oberen Atemtrakts, mit der Erkrankung der Schizophrenie in Verbindung gebracht (Brown und Susser, 2002; Brown und Derkits, 2010; Sorensen et al., 2009); zumal davon ausgegangen wird, dass maternale, plazentagängige Zytokine die neuronale Entwicklung des Fetus' beeinträchtigen (Sorensen et al., 2009). Hierzu liefert ein von Brown und Derkits gemessener, signifikant erhöhter Wert proinflammatorischer Zytokine bei Müttern mit Nachwuchs mit Psychosen im Vergleich zu anderen einen Hinweis (Brown und Derkits, 2010). Vermutlich limitieren diese Zytokine den Bestand kortikaler Neurone während der Gehirnentwicklung (Brown und Derkits, 2010), indem durch sie induzierte Mechanismen die Mikroglia und Astroglia des fetalen Gehirns zur Produktion neurotoxischer Substanzen wie Stickstoffmonoxid und exzitatorischer Aminosäuren stimuliert werden (Patterson, 2009). Es konnten in der genetischen Forschung Gene in der Major Histocompatibility Complex- Region (MHC-Region) mit der Erkrankung der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht werden (Schmitt et al., 2016; Stefansson et al., 2009)

Ebenfalls wurden Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen, nämlich ein vorzeitiger Blasensprung, Schwangerschaftsdauer < 37 Wochen, Verwendung von Brutkästen bei Frühgeborenen, Geburtsgewicht < 2500 g, Präekklampsie, partale Blutungen, maternale Sepsis nach Geburt und Zangengeburten als Risikofaktoren für eine Entwicklung der Schizophrenie beim Kind gefunden (Byrne et al., 2007; Geddes et al., 1999). Diesbezüglich wird angenommen, dass aus einer fetalen Hypoxie ein neuronales Entwicklungsdefizit resultiert (Byrne et al., 2007).

Eine aus epidemiologischen Studien bereits lange bestehende Erkenntnis beschreibt die Relation von fortgeschrittenem paternalen Alter und der Entwicklung einer Schizophrenie (Brown, 2011; Stilo und Murray, 2010). Mittels einer Metaanalyse wurde 2011 ein signifikant erhöhtes Risiko bei den Nachkommen von Vätern mit einem Alter > 30 Jahren festgestellt, jedoch ebenso bei einem Alter < 25 Jahren (Miller et al., 2011).

Als exogene Risikofaktoren gelten zudem unterschiedliche Formen einer Mangelernährung der Mutter und potentiell dadurch hervorgerufene Vitamin D-, Folsäure- und Eisendefizite, aus denen unter anderem durch eine gestörte Myelination neuronale Fehlentwicklungen resultieren können (Brown, 2011; Connor und Menzies, 1996; Kinney et al. 2009).

1.1.5.3 Genetische Faktoren

1.1.5.3.1 Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien

Von zahlreichen Autoren wurden epidemiologische Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien durchgeführt, die über eine familiäre Häufung schizophrener Psychosen berichten konnten und einen ursächlichen, genetischen Mechanismus für die Ausprägung des jeweiligen Phänotyps nahelegen (Moran et al., 2016). Ein wichtiger Hinweis hierfür ist die Tatsache, dass der stärkste Prädiktor für die Entwicklung der Krankheit das Vorhandensein eines an Schizophrenie leidenden Familienangehörigen ersten Grades ist (Waddington et al., 2007). Grundsätzlich ist das Erkrankungsrisiko umso höher, je näher der Grad der Verwandtschaft zu einem an Schizophrenie Erkrankten ist (Kotlar et al., 2015). So konnten Familienstudien zeigen, dass bei Verwandten ersten Grades das Risiko, die Krankheit zu entwickeln bei 6-17%, bei Verwandten zweiten Grades bei 3-6% und bei Verwandten dritten Grades bei 2-4% liegt; währenddessen beträgt das Lebensmorbidityrisiko in der Allgemeinbevölkerung hingegen 1% (Janoutová et al., 2016; Patel et al., 2014).

In Familienstudien wird das Auftreten einer Störung in Abhängigkeit vom Verwandtschaftsgrad einer sicher erkrankten Person (Indexpatient) untersucht, unter anderem, um Hinweise auf ein Vererbungsmuster zu erhalten. Zudem liefern Familienstudien mögliche Hinweise auf genetische Heterogenitäten, die variable Penetranz der Vererbung, und helfen Symptommengen einer Erkrankung zu definieren (Shields und Gottesman, 1972).

Zwillingsstudien leisten einen wichtigen Beitrag für das Verständnis genetisch- und umweltbedingter Einflüsse auf funktionelle Psychosen (Cardno et al., 1999). In ihnen kann die Übereinstimmung (krankheitsspezifischer) Merkmale unter Zwillingen untersucht werden. Eineiige Zwillinge teilen sich ein relatives Risiko von etwa 50% (Cardno et al., 1999; Riley und McGuffin 2000). Es zeigen sich jedoch Spannweiten der Konkordanzrate von 41-80% bei monozygoten und 0-28% bei dizygoten Zwillingen (Patel et al., 2014; Schmitt et al., 2016; Tandon et al., 2008; Tsuang et al., 2001). Die Synopsis mehrerer Studien dieser Art lässt eine Heritabilität zwischen 41-87% vermuten, wobei wegen der nicht 100%igen Konkordanz zwischen monozygoten Zwillingen eine vermutliche Beteiligung epigenetischer Faktoren und Umweltfaktoren berücksichtigt werden sollte (Cardno et al., 1999; Riley und McGuffin, 2000).

In Adoptionsstudien werden die Gesundheitszustände von Kindern an Schizophrenie erkrankter und nichterkrankter Eltern untersucht, die bei an Schizophrenie erkrankten oder nichterkrankten Adoptiveltern aufwachsen (Patel et al., 2014). Theoretisch lassen sie eine genauere Differenzierung zwischen genetischen und exogenen Risikofaktoren zu als Zwillingsstudien (Gejman et al., 2011). Aus ihnen geht hervor, dass von an Schizophrenie leidenden Eltern stammende Adoptivkinder ein höheres Risiko hatten ebenfalls zu erkranken als Adoptivkinder, die bei nichterkrankten Eltern aufwachsen (Kotlar et al., 2015; Moran et al., 2016). In einer Zusammenschau von Adoptionsstudien ließ sich unabhängig vom Zeitpunkt der Adoption und dem Zeitpunkt des Krankheitsausbruches ein erhöhtes Risiko für den Nachwuchs von Schizophreniepatienten zeigen (Gejman et al., 2011; Janoutová et al., 2016). Dabei fiel auf, dass Nachwuchs von an Schizophrenie erkrankten Müttern, unabhängig von der aufziehenden Person (schizophren oder nicht schizophren) ein ähnliches Risiko tragen (Higgins, 1976), sowie dass das Aufwachsen bei psychotisch erkrankten Adoptiveltern für Kinder gesunder Mütter kein erhöhtes Risiko darstellt (Wender et al., 1974).

1.1.5.3.2 Kopplungsstudien

Das Ziel von Kopplungsanalysen (englisch: linkage studies) ist, innerhalb von Familien die Kosegregation eines DNA-Markers bekannter Position mit der untersuchten Krankheit nachzuweisen und damit wahrscheinliche Suszeptibilitätsgene aufzudecken (Tandon et al., 2008). Die Genprodukte der

untersuchten Polymorphismen sind dabei wahrscheinlich für die Pathomechanismen der Erkrankung verantwortlich (Nieratschker et al., 2010).

Mittels vieler genomweiter Kopplungsstudien wurde bereits festgestellt, dass manche Genorte mit der Schizophrenie gekoppelt vererbt werden (Greenwood et al., 2013; Holmans et al., 2009; Lewis et al., 2003; Pulver et al., 2000). Es konnte dennoch kein Gen bzw. keine Genmutation für sich allein gefunden werden, die eine Rolle als maßgeblicher Auslöser für die Erkrankung spielt (Harrison und Weinberger, 2005; Hida et al., 2013).

In einer Kopplungsstudie von Blouin et al. wurde neben einem signifikanten Hinweis auf Chromosom 13q32 ebenfalls ein möglicher Hinweis auf 8p21-22 festgestellt (Blouin et al., 1998).

Holmans und Kollegen führten 2009 eine weitere, größere Kopplungsstudie durch, die 707 europäische Familien und insgesamt 1615 Patienten und 1602 gesunde Kontrollprobanden beinhaltete. Sie ergab Hinweise auf die Chromosomenregionen 8p21, 8q24.1, 9q34 und 12q24.1, wobei die konsistentesten Ergebnisse für 8p21 sprachen (Holmans et al., 2009). Signifikante Kopplungspeaks auf Chromosom 8 wurden auch in anderen Studien mit genomweiten Screenings gefunden: von Holliday und Kollegen mit einer Verbindung zwischen den Regionen 8p23.3-p21.2 und von Suarez und Kollegen mit einer Verbindung zwischen den Regionen 8p23.3-q12 (Holliday et al., 2008; Suarez et al., 2006).

Jedoch konnten positive Ergebnisse aus Kopplungsstudien nicht konsistent repliziert werden (Greenwood et al., 2013; Greenwood et al., 2016; Owen et al., 2004). In Metaanalysen wurden Kopplungsstudien zusammenfassend betrachtet, um konsistentere Ergebnisse zu erzielen und bestenfalls zu replizieren und verifizieren (Nieratschker et al., 2010). In einer solchen konnten 2002 die Chromosomenregionen 8p, 13q und 22q als Risikoregionen identifiziert werden (Badner und Gershon, 2002). In einer weiteren Metaanalyse, die 20 genomweite Kopplungsstudien beinhaltete, fanden Lewis et al. 2003 mehrere signifikante Kopplungen von bestimmten Chromosomenlokalisationen und der Schizophrenie. Die Genregionen 1p13.3-q23.3, 2p12-q22.1, 2q22.1-q23.3, 3p25.3-p22.1, 5q23.2-q34, 6pter-p22.3, 6p22.3-p21.1, 8p22-p21.1, 11q22.3-q24.1, 14pter-q13.1, 20p12.3-p11 und 22pter-q12.3 lieferten signifikante Ergebnisse für eine mögliche Beteiligung an der Entstehung einer Schizophrenie (Lewis et al., 2003).

In einer weiteren, späteren Metaanalyse, die 32 genomweite Kopplungsstudien umfasste, wurden signifikante Werte für die Genloci 1, 2q, 3q, 4q, 5q, 8p und 10q identifiziert (Ng et al., 2009).

Beachtenswert ist hierbei, dass für Schizophrenie relevante Genorte auch Überlappungen mit denen für bipolare und teilweise für unipolare Erkrankungen aufweisen (Nieratschker et al., 2010). Dies könnte darauf hinweisen, dass es Gene gibt, die in Entstehungsmechanismen von mehr als einer psychiatrischen Erkrankung von Relevanz sind (Gejman et al., 2011; Nöthen et al., 2004; Owen et al., 2004).

Im Rahmen von Kopplungsstudien ist es möglich, chromosomale Regionen zu finden, an denen eine Lokalisation bedeutsamer Krankheitsgene wahrscheinlich ist (Abbildung 2, S. 24). Jedoch erschweren die große Zahl beteiligter Gene und Unregelmäßigkeiten der Studienbedingungen (beispielsweise Unterschiede in Phänotypdefinition, Stichprobengröße und die verwendeten Marker) die Findung von Regionen, die replizierend konsistent in allen Studien nachgewiesen werden (Greenwood et al., 2016; Nieratschker et al., 2010; Nöthen et al., 2004). Diese Versuche Genloci für Schizophrenie unter Verwendung von Kopplungsstudien zuzuordnen, brachten demzufolge gemischte Ergebnisse, von denen viele nicht repliziert werden konnten (Greenwood et al., 2013; Kotlar et al., 2015).

Die hohe Anzahl an Genen, die sich in den identifizierten Chromosomenregionen befindet und ungefähr einem Viertel aller bekannter Gene entspricht, demonstriert die Ungenauigkeit von Kopplungsstudien, so dass allein durch dieses Studienmodell ein Rückschluss auf tatsächliche Suszeptibilitätsgene nicht möglich ist (Owen et al., 2004; Tandon et al., 2008).

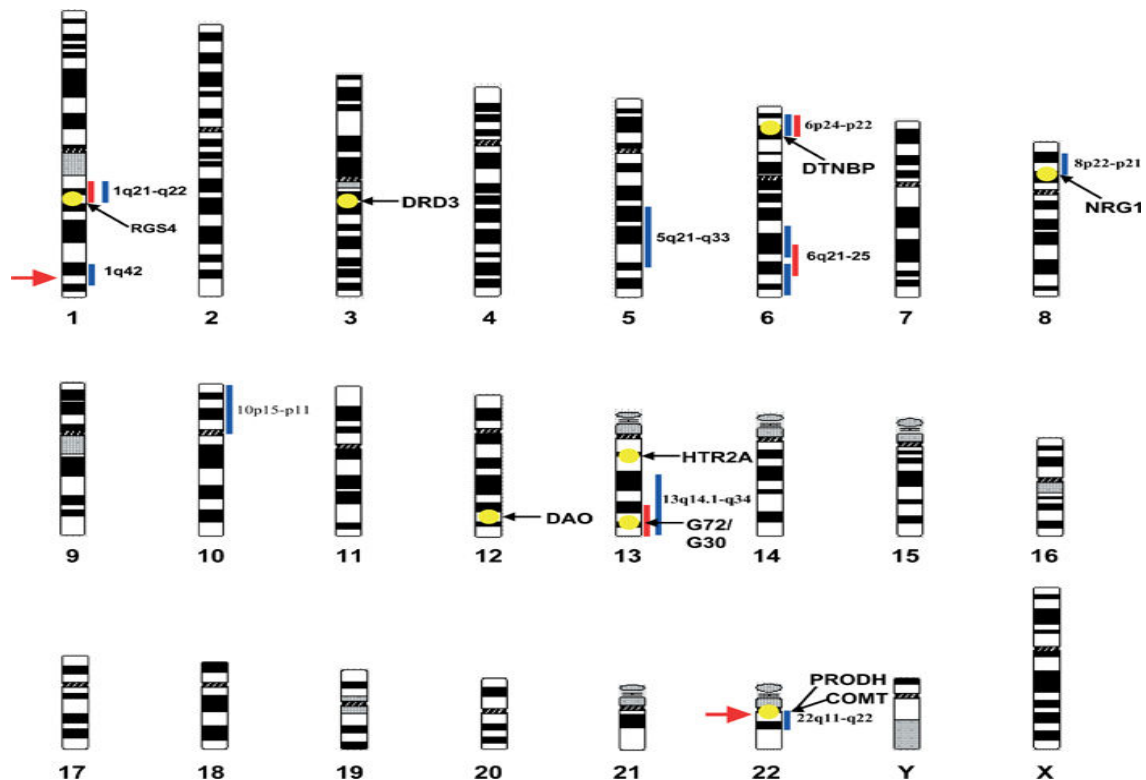


Abbildung 2: Wichtige Chromosomenregionen und Gene, die durch Kopplungsstudien mit Schizophrenie in Zusammenhang gebracht werden (Owen et al., 2004)

1.1.5.3.3 Assoziationsstudien

In Assoziationsstudien werden Allelfrequenzen zwischen Betroffenen und Nichtbetroffenen statistisch, meist anhand eines Fall-Kontroll-Studiendesigns, miteinander verglichen (Lencz et al., 2014; Nieratschker et al., 2010). Daher können auch für Gene mit geringem Effekt eindeutige Assoziationen zwischen einer Genvariante und der Erkrankung validiert werden. Es werden dabei festgelegte Genvarianten von Kandidatengenen bei Patienten und Kontrollen untersucht und anschließend evaluiert, ob bestimmte Variationen in einer Gruppe signifikant häufig auftreten. Voraussetzungen für diesen Ansatz sind Proben von nichtverwandten Kontrollen und Patienten, die aber derselben ethnischen Gruppe zugehören sollten, da die Häufigkeiten der Sequenzvarianten in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen oft stark variieren (Harrison, 2015).

Die in Assoziationsuntersuchungen verglichenen Allelfrequenzen zwischen Patienten und Kontrollen werden anhand von *Single Nucleotid Polymorphisms* (SNP) beschrieben (Moran et al., 2016). Ein SNP ist ein einziges und variables Nukleotid innerhalb der DNA, das sowohl in kodierenden als auch in nichtkodierenden Bereichen in Abständen von 100-300 Basen auftritt (Harrison, 2015). Von ihnen sind bislang mehrere Millionen im menschlichen Genom bekannt.

Es wurden Kandidatengene und deren Varianten untersucht, von denen vermutet wird, dass sie bezüglich der Ätiologie der zu untersuchenden Erkrankung relevant sind. Dazu gehören Gene, die sowohl für pathogenetisch relevante Proteine kodieren als auch Gene, die in Kopplungsanalysen als relevant ermittelt wurden (Owen et al., 2004). In Bezug auf die Schizophrenie und kognitive Funktionen kommen vor dem Hintergrund der Dopamin- und Glutamathypothese (Kapitel 1.1.7) beispielsweise Gene in Frage, die für Dopaminrezeptoren kodieren oder in die Regulation der dopaminergen/ glutamatergen Neurotransmission eingreifen können (Deserno et al., 2016). Die mit der Erkrankung der Schizophrenie einhergehende genetische Heterogenität und Polygenität sind jedoch beträchtlich und haben viele Versuche daran gehindert, Kandidatengene und Assoziationen zu bestätigen und Kopplungsregionen zu replizieren (Greenwood et al., 2016).

Auch ohne Hinweise auf eine spezifische Kandidatengenregion, kann mittels sogenannter Genomweiter Assoziationsstudien (GWAS) das gesamte Genom eines Menschen auf SNPs untersucht werden (Lam et al., 2017; Nieratschker et al., 2010). In den GWAS werden bei allen Studienteilnehmern mehrere Millionen SNPs genotypisiert. Daraufhin wird geprüft, ob eine Assoziation zu dem zu untersuchenden Merkmal vorliegt. Aktuell wird ein p-Wert von $p \leq 5 \times 10^{-8}$ als genomweit signifikant gewertet (Ripke et al., 2014).

Die erste GWAS zur Schizophrenie stellten 2007 Lencz et al. vor. Bei einer Analyse von etwa 500.000 Markern an 178 Schizophreniepatienten und 144 gesunden Kontrollen konnte von der Arbeitsgruppe nach einer individuellen Genotypisierung eine starke Assoziation des in der Nähe des CSF2RA (colony stimulating factor, receptor 2 alpha) Gens liegenden SNP rs4129148 mit der Erkrankung gefunden werden (Lencz et al., 2007).

In einer GWAS von Stefansson et al. konnte eine signifikante Assoziation zwischen Polymorphismen der MHC-Region der Chromosomenregion 6p21.3-22.1, zwischen einem Marker im vierten Intron des Transkription Faktor 4-Gens (TCF4-Gen) sowie einem Marker von 11q24.2 des Neurogranin-Gens (NRGN) mit der Schizophrenie nachgewiesen werden (Stefansson et al., 2009).

In einer 36.989 Patienten und 113.075 gesunde Kontrollprobanden aus 49 Ethnien abstammend (46 europäischer und drei ostasiatischer Herkunft) beinhaltenden, mehrstufigen GWAS, die etwa 9,5 Millionen Varianten berücksichtigte, wurde 2014 eine Assoziation von 108 Genorten festgestellt. Unter ihnen befanden sich Gene,

deren Produkte im Gehirn exprimiert und somit von einer gewissen biologischen Plausibilität begleitet werden. Ein Großteil der Resultate zeigt Assoziationen, die den Genort des Dopamin-Rezeptor-2 (DRD2) sowie die glutamaterge Neurotransmission und in die synaptische Plastizität involvierte Gene (u.a. GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1) betreffen und somit die pharmakotherapeutisch relevanten und vorherrschenden pathophysiologischen Hypothesen zur Ätiologie der Schizophrenie stützen (siehe Kapitel 1.1.7). Ebenfalls wurden Assoziationen zu den für Untereinheiten spannungsabhängiger Kalziumkanäle kodierenden Genen CACNA1C, CACNB2 und CACNA1L gefunden (Ripke et al., 2014).

GWAS zeigen eine signifikante polygene Komponente des Risikos an Schizophrenie zu erkranken auf, die womöglich bis zu Tausende von gemeinsamen Allelen mit jeweils geringer Wirkung umfasst (Birnbaum und Weinberger, 2013). Ähnliche Ergebnisse wurden in GWAS festgestellt, die kognitive Fähigkeiten untersuchten, und eine molekulare Bestätigung der genetischen Überlappung zwischen Schizophrenie und allgemeiner kognitiven Fähigkeit liefern konnten (Lencz et al. 2014, Trampush et al., 2017).

1.1.6 Neuropathologische und morphologische Veränderungen

Im Rahmen einer zügigen Weiterentwicklung bildgebender Verfahren in den letzten Dekaden hat sich die Möglichkeit einer genaueren Untersuchung der Hirnmorphologie und Neuropathologie von Gesunden und Patienten mittels MRT- und PET- Diagnostik ergeben, die eine leistungsfähige Strategie für das Verständnis von neuronalen Mechanismen des genetischen Risikos für komplexe ZNS-Störungen auf Ebene des menschlichen Gehirns darstellt (Birnbaum und Weinberger, 2013; Schmitt et al., 2016). Um neuroanatomische Unterschiede quantitativ abzubilden, stellt die Voxel-basierte Morphometrie (VBM) ein beliebtes Verfahren dar, das die Verteilung der grauen Substanz über die Hirnregionen einschätzt (Glahn et al., 2008; Palaniyappan et al., 2015). Bislang konnte zwar keine typische Pathognomie der Schizophrenie im Sinne einer einzigen morphologischen Veränderung eruiert werden, jedoch bestehen wesentliche, histopathologische Korrelate, die mit der Erkrankung einhergehen (Birnbaum und Weinberger, 2013; Harrison, 2000; Palaniyappan et al., 2015). In mehreren Metaanalysen konnte eine Verminderung des gesamten Hirnvolumens, insbesondere der grauen Substanz, bei Patienten mit chronischer Schizophrenie dokumentiert werden (Bora et al., 2011; Chan et al., 2009;

Ellison-Wright et al., 2008; Goghari et al., 2014; Shenton et al., 2001). Durchschnittlich geht die Erkrankung mit einem Gewebeverlust von etwa 3% einher (Wright et al., 2000). Mittels VBM- Studien konnten reduzierte Dichten ebenfalls im medialen Temporallappen und im superioren Temporalgyrus abgebildet werden (Keshavan et al., 2008). Sehr häufig zeigen sich Volumendefizite im Gyrus temporalis superior und Gyrus frontalis inferior der linken Seite (Schmitt et al., 2016; Shenton et al., 2001). Eine reduzierte Dichte der grauen Substanz zeigt sich ebenfalls in der bilateralen Inselrinde, dem anterioren cingulären Kortex, dem linken parahippokampalen Gyrus, dem linken mittleren frontalen Gyrus, dem postzentralen Gyrus und dem Thalamus, während striatale Regionen eine erhöhte Dichte aufzeigten (Chan et al., 2011; Gallinat et al., 2016; Glahn et al., 2008). In einer Metaanalyse von Bora von 2011 konnten auffällige Defizite der grauen Substanz insbesondere bei männlichen Patienten, chronisch Kranken und Patienten mit ausgeprägter Negativsymptomatik dokumentiert werden. Volumenverluste der weißen Substanz wurden in interhemisphärischen Fasern, der vorderen Thalamusstrahlung, im Fasciculus longitudinalis inferior, im Fasciculus fronto-occipitalis inferior, Cingulum und im Fornix gefunden (Bora et al., 2011). Sie können sich bereits in einem frühen Stadium der Erkrankung ausprägen und im weiteren Verlauf persistieren bzw. sich progredient ausweiten (Chan et al., 2011; Keshavan et al., 2008). Sie können aber auch bereits vor Krankheitsausbruch bestehen und/ oder bei gesunden Angehörigen ersten Grades vorliegen (Weinberger und McClure, 2002). Weiterhin liegt bei Schizophreniepatienten eine häufig linksbetonte Erweiterung der Liquorräume, insbesondere der Seitenventrikel und des dritten Ventrikels, vor (Ross et al., 2006; Shenton et al., 2001; Wright et al., 2000).

In PET- Untersuchungen konnte bei Erkrankten häufig eine reduzierte Aktivität in frontalen Hirnarealen dokumentiert werden (Deserno et al., 2016; Maia und Frank, 2017). Verminderte präfrontale Volumina bei Schizophreniepatienten sind wiederum mit einem beeinträchtigten Arbeitsgedächtnis assoziiert (Goghari et al., 2014).

Die Ursache all dessen ist bislang unklar (Marsman et al., 2013). Störungen der synaptischen Funktion könnten Anomalien der neuronalen Konnektivität unterliegen, die möglicherweise Interneurone betreffen, aber die genaue Art, Lage und Zeitlage dieser Ereignisse sind ungewiss (Owen et al., 2016). Es wird davon ausgegangen, dass es am ehesten im Rahmen von einer Reduktion synaptischer Verbindungen und Rarefizierung dendritischer Spines und apikaler Dendriten (unter Beteiligung

einer abnormalen Neurotransmitterfunktion) zu Beeinträchtigungen der neuronalen Konnektivität kommt (Birnbaum und Weinberger, 2013; Feigenson et al., 2014; Harrison und Weinberger, 2005; Keshavan et al., 2008; Rosoklija et al., 2000; Ross et al., 2006; Waddington et al., 2007).

Ob die zytoarchitektonischen, neuroanatomischen Veränderungen nun als Folge einer progredienten Degeneration oder eher als Folge einer pathologischen, entwicklungsgeschichtlich frühen Hirnentwicklung anzusehen sind, ist konzeptuell und methodisch umstritten (Weinberger und McClure, 2002). Einerseits geben zahlreiche bildgebende Studien und post-mortem Untersuchungen Hinweise auf eine fehlende Gliose in Präparaten von Schizophreniepatienten, was als Indikator für einen nicht degenerativen Vorgang verstanden werden kann (Falkai et al., 2015; Harrison, 2000). Andererseits konnte dokumentiert werden, dass eine Progredienz der neuroanatomischen Veränderungen vorliegt (Chan et al., 2011; Marsman et al., 2013; Pantelis et al., 2005; Rapoport et al., 2012). In diesem Zusammenhang könnten Manifestationen der Erkrankung wie neuropsychologische Defizite und charakteristische Verhaltensmuster ebenfalls als Effekte von multiplen Vorgängen verstanden werden, die sich (genetischer und nicht genetischer Natur) in unterschiedlichen Entwicklungsstufen ereignen (Pantelis et al., 2005).

1.1.7 Neurotransmitterhypothesen

Mittels in vivo PET- und SPECT (single photo emission computed tomography) - Studien, sowie auch durch post mortem Diagnostik ist es jedoch möglich Abnormitäten und Ungleichgewichte auf Synapsen- und Neurotransmitterebene zu untersuchen, die einen neurochemischen Einfluss auf die Erkrankung der Schizophrenie auszuüben scheinen (Harrison und Weinberger, 2005; Howes et al., 2015; Keshavan et al., 2008). Durch post mortem Untersuchungen sind beispielsweise Abweichungen in verschiedenen Neurotransmittersystemen erkenntlich geworden, die veränderte Dopamin-, Glutamat-, Serotonin-, und Gamma-Amino-Buttersäure (GABA)- Regelkreise einschließen (Harrison, 2000; Kristiansen et al., 2007; Lewis und Moghaddam, 2006; Meador-Woodruff und Healy, 2000; Stone et al., 2007).

Sowohl dopaminerge als auch glutamaterge Systeme stellen gleichzeitig elementare Bausteine der Neurotransmission für kognitive Funktionen dar (Cropley et al., 2006; Lewis und Moghaddam, 2006).

Vermutlich sind kognitive Defizite und Negativsymptomatik die Folge von Dysbalancen mehrerer, funktionell in Zusammenhang stehender Neurotransmittersysteme. Durch weitere Beeinflussung endogener und/ oder exogener Faktoren resultiert daraus eine striatale Hyperaktivität, der häufig ein Ausbruch der Psychose folgt (Howes et al., 2015; Maia und Frank, 2017). Möglicherweise beeinflussen sämtliche endogenen und exogenen Risikofaktoren in finaler Konsequenz den striatalen Dopaminhaushalt (Stilo und Murray, 2010).

1.1.7.1 Dopaminerges System

Eine seit etwa 50 Jahren bestehende, zentrale Hypothese zur Erklärung der Pathophysiologie der Schizophrenie stellt die Dopaminhypothese dar (Abi-Dargham und Moore, 2003; Deserno et al., 2016). Diese Hypothese wurde im Laufe der Zeit mehrfach modifiziert und differenziert betrachtet (Howes et al., 2015). Sie postuliert, dass ein Ungleichgewicht zwischen mesolimbischen und mesokortikalen Strukturen besteht, welches auf einer frontalen dopaminergen Hypoaktivität und einer konsekutiven mesolimbischen dopaminergen Hyperaktivität beruht (Maia und Frank, 2017). Eine frontale Hypoaktivität an D1-Rezeptoren wurde dabei mit negativen Symptomen wie kognitiver Beeinträchtigung in Zusammenhang gebracht (Abi-Dargham und Moore, 2003). Eine Hyperaktivität an D2-Rezeptoren in mesolimbischen, subkortikalen Arealen und eine dadurch verursachte, verstärkte Ausschüttung von Dopamin im Striatum, die mit einer Positivsymptomatik assoziiert ist, konnte nachgewiesen werden (Deserno et al., 2016; Maia und Frank, 2017; Ross et al., 2006).

Diese Hypothese wird durch die Beobachtung gestützt, dass die Einnahme von dopaminergen Substanzen wie Amphetaminen einen Ausbruch oder eine Verschlimmerung von schizophrenietypischen Symptomen induzieren kann (Ross et al., 2006). Des Weiteren konnten Assoziationen zwischen einzelnen SNPs des Dopamin-Rezeptor-D2-Gens (DRD2) und der Erkrankung nachgewiesen werden (Ripke et al., 2016).

Es wird davon ausgegangen, dass sich die hauptsächliche dopaminerge Dysfunktion präsynaptisch abspielt, dass sie zu Beginn der Krankheit besteht und mit dem Beginn der Psychose in Zusammenhang steht. Inwiefern Dopaminveränderungen sich auf das Auftreten von kognitiven Einschränkungen auswirken, ist unklar (Howes et al., 2015).

1.1.7.2 Glutamaterges System

Die Beteiligung glutamaterger Mechanismen an der Pathophysiologie der Schizophrenie wird ebenfalls bereits seit einigen Dekaden vermutet und erforscht (Gallinat et al., 2016). Auch diese Hypothese wurde im Laufe der Jahre modifiziert. (Howes et al., 2015). Sie postuliert, dass ein Mangel an Glutamat bzw. eine Unterfunktion von NMDA-Rezeptoren ursächlich für das Krankheitsgeschehen der Schizophrenie ist, da dadurch Schizophreniesymptome, zum Beispiel paranoid-halluzinatorische Syndrome, bei Gesunden hervorgerufen werden und bei bereits Erkrankten exazerbieren können (Hu et al., 2015; Kristiansen et al., 2007; Stone et al., 2008). Obwohl viele Glutamatrezeptoren mit ihr in Verbindung gebracht wurden, wird vorherrschend von dem Einfluss einer NMDA-Rezeptor Dysfunktion ausgegangen (Howes et al., 2015; Kristiansen et al., 2007; Steiner et al., 2013).

Diese Hypothese beruht unter anderem auf Studienergebnissen, die gezeigt haben, dass im Liquor, aber auch in der medial frontalen Region von Schizophreniepatienten verringerte Glutamatspiegel bestanden (Marsman et al., 2013). Darüber hinaus entwickelten Patienten, die NMDA-Rezeptor-Antagonisten wie Phencyklidin oder Ketamin missbrauchten, häufig sowohl Positiv- als auch Negativsymptomatik und es konnte eine Hypoaktivität im glutamatergen System nachgewiesen werden (Gallinat et al., 2016; Maksymetz et al., 2017; Meador-Woodruff und Healy, 2000).

Des Weiteren konnten funktionell-morphologisch veränderte Dendriten glutamaterger Neurone und verminderte axonale Endigungen festgestellt werden (Hu et al., 2015). Tierexperimentell und in post mortem Studien festgestellte Veränderungen der Expression vieler Proteine der glutamatergen Signalkaskade nach NMDA-Rezeptorblockade bestehen vor allem im anterioren und posterioren Zingulum, Hippokampus und retrosplenialen Kortex und ähneln damit den histopathologischen Veränderungen bei Schizophrenie (Gallinat et al., 2016; Kristiansen et al., 2007; Meador-Woodruff und Healy, 2000).

Durch das Zusammenwirken und die gegenseitige Modulation und Regulation der verschiedenen Neurotransmittersysteme lässt sich aktuell keines davon als allein ursächlich für die Dysfunktionen beschreiben (Stone et al., 2007; Abbildung 3, S. 31). Es wäre beispielsweise möglich, dass aufbauend auf einer NMDA-Rezeptor-Dysfunktion in einem späteren Schritt eine Wechselwirkung mit Dopamin-D1-Rezeptoren eintritt und somit im Rahmen eines funktionellen Zusammenhangs ein

dopaminerges Ungleichgewicht hervorgerufen wird (Roberts et al., 2010). Jedoch ist der genaue Ablauf dieser Interaktion noch unklar (Tsai und Coyle, 2002).

Eine integrierte Hypothese beschreibt die Interaktion zwischen dopaminerger und glutamaterger Mechanismen, wobei unter anderem die dopaminerge Dysfunktion als ursächlich für positive Symptome anzusehen ist, während die gestörte glutamaterge Neurotransmission kognitive- und Negativsymptomatik hervorrufen vermag (Maksymetz et al., 2017). Jedoch bleiben die genauen neurobiologischen Vorgänge letztlich unverstanden (Howes et al., 2015; Owen et al., 2016).

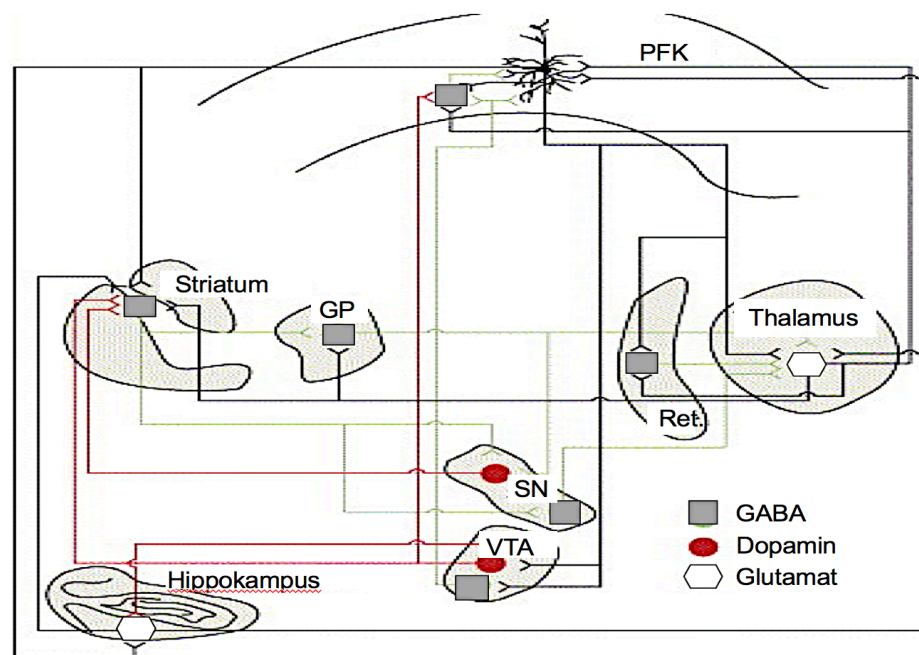


Abbildung 3: Pathophysiologie der Schizophrenie: Vereinfachte Darstellung interagierender Neurotransmitter zwischen kortikalen und subkortikalen Strukturen; GP: Globus pallidus, PFK: Präfrontaler Kortex; Ret: Formatio reticularis, SN: Substantia nigra, VTA: Ventrales tegmentales Areal (nach Kristiansen et al., 2007)

1.2 Kognition und Gedächtnis

1.2.1 Konzept der Kognition und des Gedächtnisses

Der Begriff Kognition (lateinisch cognoscere: erkennen, wiedererkennen, wahrnehmen) bezeichnet eine bewusste oder unbewusste Hirnfunktion, die aus allen Sinnesmodalitäten aufgenommene Reize auswertend integriert, die Umsetzung von Verhaltensantworten plant und initiiert und damit als ein System fungiert, das der

Intelligenz übergeordnet ist und jegliche Formen des Wissens inkludiert (Duncan, 2013; O'Callaghan et al., 2015).

Das Gedächtnis ist eine wichtige Kapazität, die für das Überleben in einer sich verändernden Umgebung benötigt wird, und eine zentrale Fähigkeit, die es Menschen und anderen Spezies ermöglicht, ein Identitätsgefühl aufrechtzuerhalten, indem es die Gegenwart mit der Vergangenheit verbindet und es somit erlaubt, die Zukunft zu antizipieren (Gur und Gur, 2013). In der experimentellen Psychologie hat sich die Vorstellung von zwei funktionell und qualitativ verschiedenen Kategorien innerhalb des Konstruktes Gedächtnis durchgesetzt (Squire und Zola, 1996). Das deklarative (oder explizite) Gedächtnis, das reines Faktenwissen von Inhalten durch zuvor erfahrene Situationen beinhaltet und eine verbale Wiedergabe ermöglicht, und das nicht-deklarative, prozedurale (oder implizite) Gedächtnis, das Informationen über die Assoziation und Ausführung von durch wiederholte Praxis erlernten Fähigkeiten speichert, deren Abruf häufig unbewusst erfolgt (Gur und Gur, 2013; Squire und Wixted, 2011). Beide Komponenten werden in weitere funktionelle Subeinheiten unterteilt, denen sich beteiligte, zerebrale Strukturen zuordnen lassen (Brem et al., 2013; Squire und Zola, 1996; Abbildung 4, S. 33).

Demnach setzt sich das deklarative oder explizite Gedächtnis aus einem semantischen und einem episodischen Anteil zusammen, die im medialen Temporallappen und Hippokampus bzw. Thalamus lokalisiert sind (Andero, 2015; Nadel und Hardt, 2011; Pirnia et al., 2015; Squire und Wixted, 2011; Abbildung 5, S. 34).

Zum nicht-deklarativen oder impliziten Gedächtnis gehören die Systeme des prozeduralen Gedächtnisses, der Bahnung und von Lernprozessen. An ihrer Verarbeitung sind Strukturen des Striatum, Neokortex, der Amygdala und des Zerebellums beteiligt (Brem et al., 2013; Park und Gooding, 2014; Squire und Zola, 1996).

Neben den qualitativen Kategorien lassen sich zeitliche Stadien der Gedächtnisbildung unterscheiden, zu denen aufeinander folgende Speichersysteme gehören: Das sensorische Ultrakurzzeitgedächtnis, das Kurzzeit- oder Arbeitsgedächtnis und das Langzeitgedächtnis (Baddeley, 2012; Nadel und Hardt, 2011). Jedoch sollen diese Bezeichnungen keine physikalischen, zerebralen Strukturen, sondern eher korrelierende Abstraktionen darstellen (Park und Gooding, 2014).

Das sensorische- oder Ultrakurzzeitgedächtnis beschreibt den Vorgang aktuell wahrgenommener Eindrücke und Erfahrungen aller Sinne, denen nicht zwingend Aufmerksamkeit geschenkt werden muss, für wenige Sekunden in einen Speicher zu überführen (Linden, 2007). Damit vermittelt es eine Vorstellung aller gegenwärtigen Ereignisse und schafft eine Voraussetzung, um Aufmerksamkeitssysteme zu aktivieren.

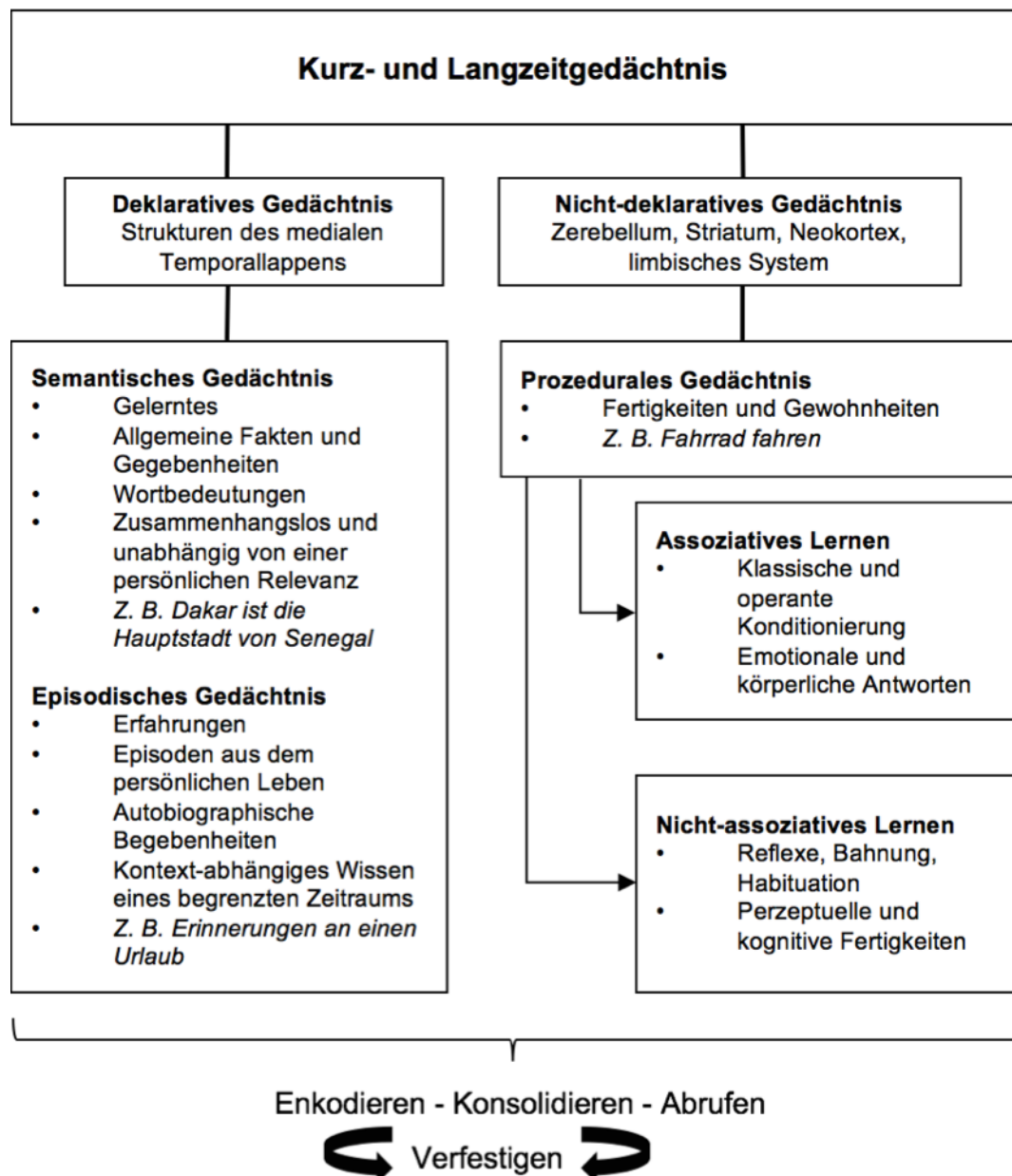


Abbildung 4: Übersicht Gedächtnisprozesse (nach Brem et al., 2013)

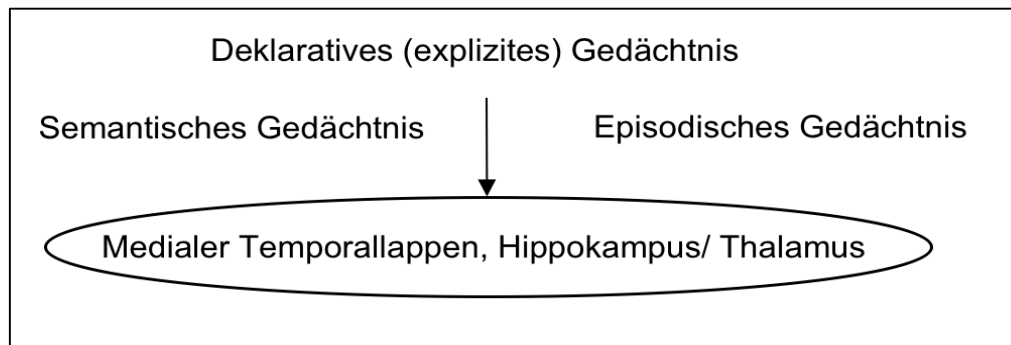


Abbildung 5: System des deklarativen Gedächtnisses

Die selektierten Informationen werden für die Dauer von Sekunden bis mehreren Minuten in das Kurzzeitgedächtnis überführt, dessen besondere Form das Arbeitsgedächtnis darstellt (Forbes et al., 2009). Es dient weniger der reinen Speicherung als vielmehr der Verarbeitung dieser selektierten Informationen, indem es Bewusstseinsinhalte verfügbar macht und der kognitiven Verarbeitung bereitstellt (Giesel et al., 2005). Im von Baddeley und Hitch 1974 formulierten Modell des Arbeitsgedächtnisses wird zwischen den Komponenten der phonologischen Schleife, dem visuell-räumlichen Speicher und der zentralen Exekutive unterschieden (Baddeley, 2012; Nadel und Hardt, 2011). Nach diesem Modell dient die phonologische Schleife der auditiven und verbalen Kodierung, der visuell-räumliche Speicher der rein visuellen und räumlichen Kodierung, während die zentrale Exekutive die Verteilung der Aufmerksamkeitsressourcen von und zu den beiden anderen Subsystemen steuert, jedoch mit nur einer begrenzten Aufnahmefähigkeit (Park und Gooding, 2014). Viele Jahre später wurde von Baddeley der episodische Speicher als ein weiteres Subsystem hinzugefügt, das eine zeitweilige Speicherung von Informationen der beiden bekannten Subsysteme und eine multimodale Zusammenführung mit Informationen des Langzeitgedächtnisses ermöglicht, um zukünftiges Verhalten zu planen und neue kognitive Repräsentationen herzustellen (Baddeley, 2012). Beeinträchtigungen des Arbeitsgedächtnisses können Hinweise auf Dysfunktionen im dorsolateralen präfrontalen Kortex und seinen Interaktionen mit Regionen wie dem Parietallappen, Thalamus und Striatum, sowie auf eine veränderte Wirkung von Neurotransmittersystemen, z. B. dem dopaminergen, glutamatergen oder GABAergen System, geben (Barch und Ceaser, 2012; Goghari et al., 2014; Lewis und Moghaddam, 2006).

Als dauerhaftes und drittes Speichersystem der zeitlichen Kategorien des Gedächtnisses bietet das Langzeitgedächtnis eine hohe Kapazität und birgt

Informationen über Stunden, Tage, Jahre bzw. über die gesamte Lebensdauer (Baddeley, 2012). Unter Konsolidierung wird hier der Vorgang der Speicherung neuer Informationen verstanden, der durch repetitives und korrespondierendes Zirkulieren der Inhalte unterstützt und bei Assoziationen mit bereits bekannten Informationen erleichtert wird (Nadel und Hardt, 2015). Werden Informationen in eine dauerhafte Form transferiert, wird von Encodierung gesprochen, während die physikalische Repräsentation der Erinnerung an das auslösende Sinnesereignis als Engramm bezeichnet wird (Dudai, 2004). Voraussetzung für die Bildung von Erinnerungen ist die synaptische Plastizität, ein Prozess bei dem sich Verbindungen zwischen Neuronen oder Synapsen auf struktureller und funktioneller Ebene in ihrer Stärke ändern (Andero, 2015).

1.2.2 Kognitive Endophänotypen der Schizophrenie

Endophänotypen

Die ätiologische Heterogenität komplexer psychiatrischer Erkrankungen wie der Schizophrenie erschwert die Diagnosesicherung und gestaltet Therapiemöglichkeiten problematisch (Owen et al., 2016). In der Vergangenheit wurden wiederholt Versuche unternommen, um hinweisende Marker ausfindig zu machen, die als spezifisches Korrelat das Auftreten der Erkrankung kennzeichnen, konnten jedoch keine zufriedenstellenden Kennwerte erreichen (Schmitt et al., 2016; Zobel und Maier, 2004). Aus dieser Problemlage heraus etablierte sich zur Erforschung der komplexen Ätiologie der Schizophrenie das Konzept der Endophänotypen oder „Intermediären Phänotypen“, welches erstmals 1972 von Gottesman und Shields bekannt gemacht wurde (Shields und Gottesman, 1972). Der Begriff Endophänotyp bezog sich zunächst auf ein nicht äußerlich offensichtliches, „inneres“ Merkmal, das durch einen biochemischen Test oder eine mikroskopische Untersuchung gemessen werden kann, und wird mit dem Begriff Intermediärer Phänotyp gleichgesetzt (Birnbaum und Weinberger, 2013).

Ein Endophänotyp wurde definiert als ein vererbbares, quantifizierbares und stabiles Merkmal, das durch eine geringere Anzahl von Genen als der zugehörige komplexe Krankheitsphänotyp determiniert ist und mit der untersuchten Erkrankung stärker assoziiert ist als mit anderen (Braff et al., 2007; Chan und Gottesman, 2008). Dadurch lassen sich quantifizierbare biologische Variationen oder Defizite darstellen, die Marker oder Indikatoren für eine mutmaßliche, erbliche Vulnerabilität für ein

Krankheitsbild sein können (Schmitt et al., 2016). Genetische Risikovarianten können an der Induktion dieser Abweichungen innerhalb von endophänotypischen Domänen wie Neurokognition, -entwicklung, -physiologie beteiligt sein (Braff et al., 2007). Sie dienen als Verbindungsglied zwischen dem heterogenen, quantitativ und qualitativ variierendem Phänotyp und dem zugehörigen Genotyp und können auf diese Weise dazu beitragen, die ätiologischen Mechanismen komplexer genetischer Erkrankungen, wie der Schizophrenie, aufzuklären (Allen et al., 2009; Hubbard et al., 2016, Lencz et al., 2014; Abbildung 6, S. 37). Sie können weniger durch das bloße Auge oder reine klinische Beobachtung, sondern vielmehr durch standardisierte, laborbasierte Methoden (beispielsweise neuropsychologische Tests, Blutanalysen, funktionelle Bildgebungsmethoden) gemessen werden und dazu beitragen, komplexe klinische Erkrankungsbilder nicht nur anhand ihrer Symptome zu beschreiben (Allen et al., 2009).

Für die Beschreibung von Endophänotypen wurden zunächst fünf Kriterien entwickelt (Gottesman und Gould, 2003):

1. Der Endophänotyp und die Erkrankung sind in der Population miteinander assoziiert.
2. Der Endophänotyp ist vererbbar.
3. Der Endophänotyp ist stabil, sollte bereits vor Ausbruch der Erkrankung bestehen und wird durch externe Faktoren nicht beeinflusst.
4. Der Endophänotyp wird mit der Erkrankung gemeinsam vererbt.
5. Angehörige, die von der Erkrankung nicht betroffen sind, zeigen eine erhöhte Assoziation mit dem Endophänotyp.

Pathologisches Verhalten spiegelt eine pathologische Hirnfunktion wider

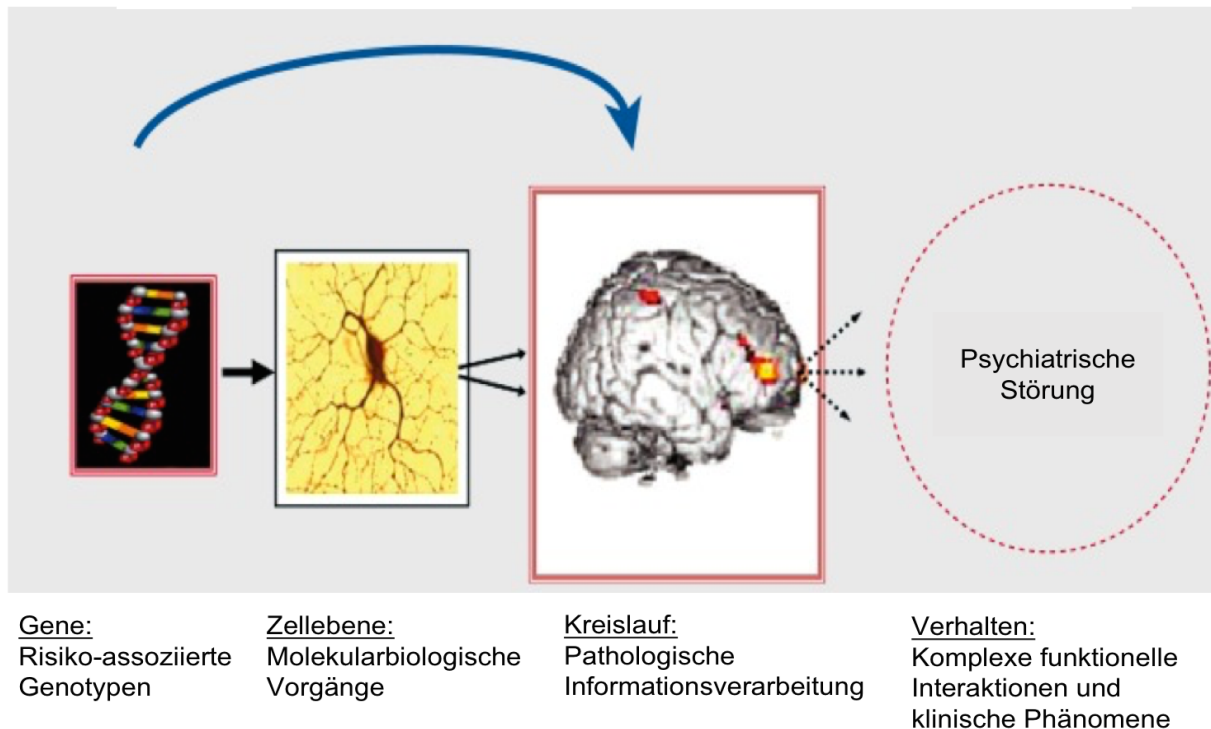


Abbildung 6: Konzept Intermediärer Phänotypen (Endophänotypen) des ZNS als Verbindungsglied zwischen Geno- und Phänotyp (nach Birnbaum und Weinberger, 2013)

Gene, die Einfluss auf die Ausprägung des Endophänotyps nehmen, stellen gleichzeitig Suszeptibilitätsgene der Erkrankung dar. Jedoch muss der Endophänotyp kein spezifisches Korrelat eines einzigen klinischen Syndroms abbilden, sondern kann auch gemeinsam mit anderen Krankheitsbildern einhergehen und damit auf potentielle Risikogene unterschiedlicher Erkrankungen hinweisen (Braff et al., 2007). Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie betreffen die biologische Basis, wie die Entwicklung von Gehirnzellen und neuronalen Systemen, die dem Ausdruck der klinischen Symptome des Syndroms zugrunde liegen (Birnbaum und Weinberger, 2013).

Endophänotypen der Schizophrenie

Die Diagnosesicherung bei der Erkrankung Schizophrenie beruht auf einer komplexen Phänomenologie verschiedener Symptome und Zeichen ohne Berücksichtigung ätiologischer Faktoren (Gejman et al., 2011; Steiner et al., 2013). Motivierend bei der Suche nach Endophänotypen der Schizophrenie waren zahlreiche Familienuntersuchungen, die psychologische und neurobiologische Normabweichungen bei gesunden Angehörigen von Schizophreniepatienten aufdeckten (Schmitt et al., 2016). Wiederkehrende Endophänotypen scheinen bei

Schizophrenie eher Resultat genetischer Variationen zu sein als klinische Symptome und könnten daher als vererbare Risikofaktoren angesehen werden (Braff et al., 2007). Nicht selten treten auch bei gesunden Individuen der Allgemeinbevölkerung mit der Schizophrenie assoziierte Endophänotypen auf (Allen et al., 2009).

Bisher wurden einige, Erfolg versprechende Endophänotypen der Schizophrenie untersucht und von Allen et al. 2009 als Momentaufnahme zusammengestellt (Tabelle 7, S. 39). Dazu zählen unter anderem charakteristische strukturelle Anomalien des Gehirns, die in post mortem Studien untersucht werden können. Zu ihnen gehören unter anderem Normabweichungen der Volumina verschiedener Hirnregionen, vorzugsweise im Areal des Hippokampus' (Seidman et al., 2002), erweiterte Ventrikelräume (McDonald et al., 2002), eine vermehrte Gyrfizierung (Vogelely et al., 2001), sowie morphologische Abnormitäten in der Region des dorsolateralen präfrontalen Kortex (Goghari et al., 2014). Jeder dieser Endophänotypen konnte in den zugehörigen Studien in geringerem Ausmaß auch bei gesunden Angehörigen festgestellt werden. Ein beeinträchtigtes Arbeitsgedächtnis, das als Korrelat morphologischer Abnormitäten in der Region des dorsolateralen präfrontalen Kortex anzusehen ist, wurde anhand von Familien- und Zwillingsstudien als möglicherweise heritables Merkmal bei Schizophrenie erkannt (Forbes et al., 2009; Goghari et al., 2014, Gottesman und Gould, 2003; Schmitt et al., 2016).

In elektrophysiologischen Untersuchungen wurde eine reduzierte Prepulse Inhibition bei Schreckreaktion als Endophänotyp der Schizophrenie ermittelt, bei der ein zeitlich vorgeschalteter Vorreiz die Reaktion auf einen zweiten Reiz nicht abschwächt (Hida et al., 2013). Mittels neuromuskulärer Reaktionen kann die gestörte Verarbeitung von Ereignissen quantifiziert werden. Auffällige neurophysiologische Befunde können daher bereits hinweisend auf einen pathologischen präattentiven Filtermechanismus sensorischer Stimuli sein.

Unter den weiteren untersuchten, Erfolg versprechenden Endophänotypen der Schizophrenie finden sich strukturelle und funktionelle Veränderungen der grauen Substanz, neuromotorische Abnormitäten oder Veränderungen der „neurologischen Soft Signs“ wie langsame Augenfolgebewegungsstörungen (Albayrak et al., 2015; Chan und Gottesman, 2008; Goghari et al., 2014; Holzmann et al., 1977), physiologische Abnormitäten wie defizitäre Veränderungen der Niacinspiegel, aber auch physische Dysmorphologien (Allen et al., 2009).

Tabelle 7: Auswahl von Endophänotypen der Schizophrenie (nach Allen et al., 2009)

Endophänotyp	Diagnostikum
Strukturelle und funktionelle Anomalien des Gehirn	<ul style="list-style-type: none"> - Ventrikelvolumen - Volumen der Oberfläche des Planum temporale - Volumen des Gyrus temporalis superior - fMRT Aktivierung während einer Aufgabe zum Arbeitsgedächtnis
Sensorische Verarbeitung und Ereignis-korrelierte Potentiale	<ul style="list-style-type: none"> - Prepulse Inhibition - P50 Suppression - P300 - N400
Neuromotorische Abweichungen	<ul style="list-style-type: none"> - Augenfolgebewegungen - Sakkaden und Antisakkaden - Händigkeit - Neurologische Soft Signs
Neuropsychologie	<ul style="list-style-type: none"> - Wisconsin Card Sorting Test - Continuous Performance Test - Visuell-räumliches Gedächtnis
Physiologische Veränderungen	<ul style="list-style-type: none"> - Niacin Belastungsprobe
Geringe physische Anomalien	<ul style="list-style-type: none"> - Dysmorphologien

Nach aktuellsten Erkenntnissen gehören zu den meist untersuchten und stärksten Endophänotypen der Schizophrenie eine gestörte sensorische Reizverarbeitung, ein beeinträchtigtes Arbeitsgedächtnis und eine reduzierte Prepulse Inhibition (Albayrak et al., 2015; Forbes et al., 2005; Gottesman und Gould, 2003).

Kognition und Gedächtnis als Endophänotypen der Schizophrenie

Kognitive Dysfunktion ist ein persistierendes Kernmerkmal bei Schizophrenie und kann als primäres Symptom der Erkrankung verstanden werden (Gur und Gur, 2013; Heinrichs und Zakzanis, 1998; Keshavan et al., 2011; Lewis und Moghaddam, 2006). Im Vergleich zur Positivsymptomatik zeigt sie sich als Teil der primären Negativsymptomatik relativ konstant im Verlauf der Erkrankung (Tamminga et al., 1998). Messbare Kategorien der Dysfunktion stellen bei der Suche nach Endophänotypen potentiell geeignete Marker dar, die mithilfe neuropsychologischer Methoden erfassbar sind und bei der Suche nach Suszeptibilitätsgenen eine wichtige Rolle spielen (Ross et al., 2006). Bereits im durch Kraepelin geprägten Begriff Dementia praecox spiegeln sich defizitäre Zustände, insbesondere mit persistierender Negativsymptomatik, wider (Giesel et al., 2005). Kognitive Dysfunktion erfüllt die von Gottesman und Gould (2003) aufgestellten,

charakteristischen Anforderungen eines Endophänotyps und erweist sich daher hierfür als ein geeigneter Marker (Chan und Gottesman, 2008; Kalkstein et al., 2010). Zwar scheinen kognitive Beeinträchtigungen bei Schizophreniepatienten nicht zwingend dem Muster einer altersbedingten Verschlechterung zu folgen, jedoch sind sie mit früher Erstsymptomatik und Erstepisode assoziiert (Schmitt et al., 2016). Innerhalb der verschiedenen kognitiven Funktionen wurde bereits eine Vielzahl als krankheitstypisches Defizit bei Schizophrenie beschrieben. Hierunter fallen z. B. Aufmerksamkeit (Hilti et al., 2008), Arbeitsgedächtnis (Forbes et al., 2009; Goghari et al., 2014; Moran et al., 2016), Verarbeitungsgeschwindigkeit (Rodriguez-Sanchez et al., 2007), episodisches Gedächtnis (Pirnia et al., 2015; Whyte et al., 2005) und exekutive Funktionen (Wobrock et al., 2009). Die Leistungseinbußen können unbeeinflusst von anderen Symptomdomänen in Erscheinung treten und bereits vor dem tatsächlichen Krankheitsausbruch bestehen (Bora et al., 2009). Sie sind bei Patienten mit Negativsymptomatik stärker ausgeprägt (Gur und Gur, 2013). Zudem können sie zwischen psychotischen Episoden anhalten und werden von antipsychotischer Medikation nur gering beeinflusst (Schmitt et al., 2016). Insbesondere Defizite des verbalen Gedächtnisses und der sozialen Kognition (z. B. beeinträchtigtes Erkennen von Emotionen) scheinen ein wesentlicher Prädiktor für ein schlechteres Gesamtoutcome zu sein, da sie durch psychosoziale Komplikationen eine Reduktion der Lebensqualität bewirken (Schmitt et al., 2016; Tamminga et al., 1998).

Von Heinrichs und Zakzanis wurden 204 Studien untersucht, die kognitive Domänen bei Gesunden und Schizophreniepatienten miteinander verglichen. Die Ergebnisse zeigten den größten Effekt im Bereich verbales Gedächtnis, bei dem Schizophreniepatienten schlechter abschnitten (Heinrichs und Zakzanis, 1998).

Kalkstein et al. konnten 2010 zeigen, dass die Funktion des Arbeitsgedächtnisses bei Schizophreniepatienten stärker betroffen ist als andere Domänen der Kognition wie Aufmerksamkeit, was wahrscheinlich auf dem Einschluss einer exekutiven Komponente beruht. Zudem zeigten sich Hinweise u. a. auf eine reduzierte Verarbeitungsgeschwindigkeit, so dass Defizite auch in andere Bereiche übertragen würden, die auf eine effiziente und schnelle Verarbeitung von Information angewiesen sind (Kalkstein et al., 2010). In diesem Zusammenhang wurden Störungen von frontalen, kortikalen Arealen vermutet, die in einer Studie von Ingvar und Franzen bereits 1974 beschrieben wurden. Es zeigte sich bei

Schizophreniepatienten eine im Vergleich zur okzipitalen herabgesetzte frontale Aktivität (Ingvar und Franzen, 1974). Diese Hypofrontalität bei Schizophreniepatienten konnte in anderen Studien repliziert werden und zeigt in der PET besonders auf superiorem Niveau einen verminderten anteroposterioren Aktivitätsgradienten im Vergleich zu Gesunden (Maia und Frank, 2017; Park und Gooding, 2014). Bei Patienten mit Schizophrenie zeige sich in funktionellen, kranialen Bildgebungsstudien ebenfalls eine reduzierte Aktivierung im temporalen Kortex, sowie in subkortikalen Regionen wie Thalamus und Korpus kallosum bzw. Nukleus kaudatus, während bei Gesunden Arbeitsgedächtnis-assozierte Aktivierungen im dorsolateralen präfrontalen Kortex (DLPFC), im Gyrus frontalis medialis, in temporoparietalen Bereichen und verschiedenen subkortikalen Regionen zu finden waren (Birnbaum und Weinberger, 2013; Glahn et al., 2005; Karch et al., 2009; Park und Gooding, 2014). Es liegen jedoch ebenfalls Studien vor, die keine Aktivierungsunterschiede frontaler Hirnareale bei Schizophreniepatienten im Vergleich mit Gesunden finden konnten (Barch und Ceaser, 2012). Eine Studie von Glahn et al. ergab, dass sich bei der Prüfung des verbalen Arbeitsgedächtnisses bei gesunden Teilnehmern eine Dominanz des linken inferioren frontalen Kortex zeigte, während bei einer räumlichen Aufgabe der präfrontale rechte Kortex höhere Aktivierungsmuster abbildete. Bei Patienten ließen sich keine Lateralisierungseffekte finden, was auf aufgabenspezifische präfrontale Fehlfunktionen, insbesondere des DLPFC bei Bearbeitung von Arbeitsgedächtnisaufgaben, schließen lässt (Birnbaum und Weinberger, 2013; Glahn et al., 2005). Aufgaben, die die zentrale Exekutive involvierten, zeigten ebenfalls geschmälerete Aktivierungen des DLPFC und von parietalen Hirnregionen (Barch und Ceaser, 2012). Durch das aus Studien gewonnene, komplexe Muster von Hyper- und Hypofrontalität sollte das Augenmerk der Forschung nicht nur auf eine DLPFC Dysfunktion konzentriert, sondern vielmehr eine Beteiligung des gesamten Netzwerks der beteiligten Areale berücksichtigt werden (Glahn et al., 2005).

Bei Schizophreniepatienten und auch bei ihren nicht erkrankten biologischen Verwandten können neben einer beeinträchtigten Funktion des Arbeitsgedächtnisses auch Störungen des deklarativen Gedächtnisses bestehen (Pirnia et al., 2015). Es wird davon ausgegangen, dass Defizite des deklarativen Gedächtnisses, insbesondere des episodischen Gedächtnisses, die Folgen einer Netzwerkstörung

mit Einbeziehung des präfrontalen Kortex und des Hippokampus sind (Andero, 2015; Barch und Ceaser, 2012; Abbildung 7).

In den letzten Jahren haben sich Ideen und Forschungsansätze über die Organisation von Lern- und Gedächtnisprozessen im menschlichen Gehirn entwickelt, die wichtige Auswirkungen für die psychiatrische Forschung mit sich bringen, indem sie z. B. molekulargenetische Zusammenhänge beleuchten können (Nadel und Hardt, 2011).

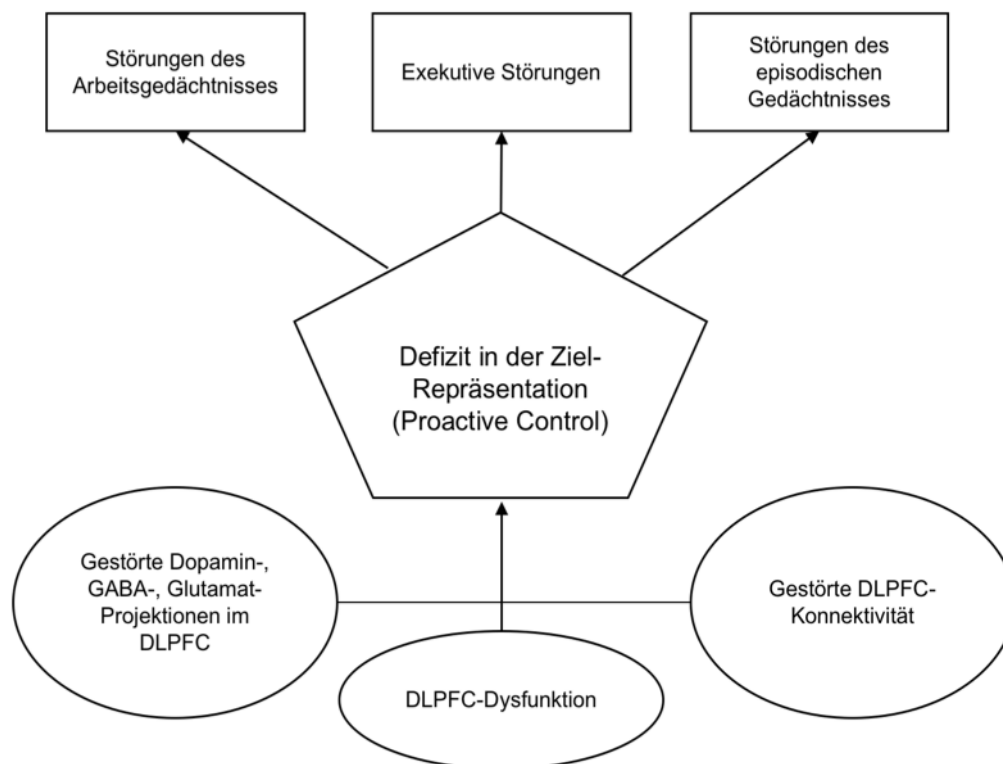


Abbildung 7: Frontale Dysfunktion und mögliche Auswirkung auf Mechanismen kognitiver Dysfunktion bei Schizophrenie; DLPFC: dorsolateraler präfrontaler Kortex (nach Barch und Ceaser, 2012)

1.3 Das PNOC-Gen

1.3.1 Genstruktur

In der Zusammenschau vieler Metaanalysen, die sich mit Kopplungen genomischer Regionen mit Schizophrenie befassen, stellten sich bereits 2003 zahlreiche Chromosomenloci als signifikant mit der Erkrankung assoziiert heraus (Lewis et al., 2003). Unter anderem konnte die Region 8p22-p21.1 als mit Schizophrenie gekoppelt identifiziert werden. In diesem Bereich sind zahlreiche Gene lokalisiert, die

als positionelle Kandidatengene der Schizophrenie näher untersucht werden müssen (Holliday et al., 2008; Suarez et al., 2006).

Das auf dem kurzen Arm des Chromosoms 8 liegende Prepronozizeptin-Gen (PNOC) ist mit dem Genlocus 8p21 kartiert und liegt zwischen den Markern WI-5833 und WI-1172, in naher Umgebung zu dem für das Neurofilament NEFL kodierenden Genlocus (Mollereau et al., 1996).

Über eine Evidenz für Suszeptibilität für Schizophrenie in der Chromosomenregion 8p21-22 wurde bereits mehrfach von unterschiedlichen Arbeitsgruppen berichtet (Blaveri et al., 2001; Blouin et al., 1998; Gurling et al., 2001; Holmans et al., 2009; Pulver, 2000; Suarez et al., 2006). Unter anderem wurde von Kendler et al. im Rahmen einer 265 irische Familien umfassenden Analyse eine Assoziation der Chromosomenregion 8p21-22 nachgewiesen, die für eine Symptomkonstellation bei Schizophrenie prädisponiert und negative Denkstörungen und affektive Defizite beinhaltet (Kendler et al., 2000). Ebenfalls fand sich in einer größeren Kopplungsstudie eine Assoziation zwischen der 8p21.2-p21.1 Region, die PNOC beinhaltet (Holmans et al., 2009; Mollereau et al., 1996).

Das PNOC-Gen, das von Mollereau et al. aus humaner genomischer DNA, sowie aus DNA von Mäusen und Ratten isoliert werden konnte, kodiert für das Präkursorprotein Prepronozizeptin, dessen Expression im gesamten ZNS, in Teilen des peripheren Nervensystems, im Intestinaltrakt, Ovar, Vas deferens, in der Milz und in Zellen des Immunsystems nachgewiesen werden konnte (Meunier et al., 1995; Mollereau et al., 1996; Reinscheid et al., 1995; Tariq et al., 2013). Regulierend auf die Expression wirken eine TATA-Box mit schwacher Promotoraktivität unmittelbar vor dem humanen PNOC liegend, sowie zelluläre cAMP- und Östrogenspiegel, die die Expression erhöhen, und Glukokortikoide, die sie herunterregulieren (Xie et al., 1999).

Prepronozizeptin zeigt organisatorische Eigenschaften, die denen der Gene für die Vorstufen der endogenen Opioidpeptide Preproenkephalin, Preprodynorphin und Preproopiomelanokortin auffallend nahekommen, so dass ein gemeinsamer evolutionärer Ursprung angenommen wird (Calo et al., 2000). Bei den Prekursorpeptiden Prepronozizeptin, Preprodynorphin und Preproenkephalin befinden sich die biologisch aktiven Peptide am C-Terminus; am N-Terminus liegen sieben Cystein Reste (Mollereau et al., 1996; Nothacker et al., 1996). Weiterhin enthalten diese Gene jeweils ein Intron, welches die kodierende Sequenz an einer

ähnlichen Position unterbricht, sowie ein Intron im 5'-untranslatierten Bereich. Im Gegensatz zu anderen Opioid-Prekursorgenen liegt bei Prepronozizeptin ein zusätzliches Exon in der 3'-untranslatierten Region vor (Mollereau et al., 1996).

Im 26,3 kb umfassenden, humanen PNOC-Gen konnten vier Exons identifiziert werden. Hierbei fanden sich in Exon 1 und 4 die nicht translatierten Regionen mit dem 5'- bzw. dem 3'-Ende. Die für das Prekursorpeptid kodierende Sequenz verteilt sich über Exon 2 und Exon 3. In Exon 2 liegt der Translationsstart. Exon 3 enthält die restliche kodierende Sequenz, sowie das Stopcodon (Abbildung 8). Es liegt ein offenes Leseraster vor (Mollereau et al., 1996). Das PNOC-Gen kodiert für die biologisch aktiven Peptide Nozizeptin (Orphanin FQ), Nozistatin und Orphanin FQ2 (OFQ-2), die posttranslational mittels enzymatischer Spaltung an Paaren basischer Aminosäurenreste entstehen und an Disulfidbrücken aus dem Prekursorprotein Prepronozizeptin modifiziert werden (Blaveri et al., 2001; Calo et al., 2000; Imai et al., 2001; Okuda-Ashitaka et al., 2012; Witkin et al., 2014). Das humane Prepronozizeptin besteht aus 176 Aminosäuren, daraus werden die folgenden Peptidprodukte mit jeweiligen Positionen prozessiert: Signalpeptid 1-19, Propeptid 20-95, Nozistatin 98-127, Nozizeptin 130-146, Orphanin FQ2 149-165, Propeptid 169-176 (Uniprot, 2018). Obwohl die biologische Aktivität dieser drei Genprodukte nachgewiesen ist, konnte bislang lediglich der Rezeptor für Nozizeptin identifiziert werden (Harada et al., 2018; Neal et al., 2003; Okuda-Ashitaka und Ito, 2015).

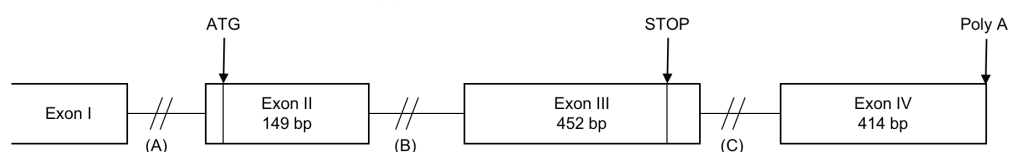


Abbildung 8: Aufbau des PNOC-Gens (nach Mollereau et al., 1996)

1.3.2 Genprodukt Nozizeptin/ Orphanin FQ

Das PNOC-Gen wird vorwiegend im zentralen Nervensystem transkribiert (Blaveri et al., 2001). Neben dem Nozistatin und dem Orphanin FQ2 leitet sich aus dem bei Menschen aus 176 Aminosäuren bestehenden Vorläufer- oder Präkursorprotein PNOC nach proteolytischer Prozessierung das Genprodukt Nozizeptin/ Orphanin FQ

ab, dessen Sequenz derer von Opioidpeptiden ähnelt und welches in Ratten aus 181 und in Mäusen aus 187 Aminosäureresten besteht (Arjomand und Evans, 2001; Imai et al., 2001; Mollereau et al., 1996; Nothacker et al., 1996).

Dieses endogene Neuropeptid, welches trotz struktureller Ähnlichkeit zu endogenen Opioiden wie dem Dynorphin A nur eine geringe bis keine Affinität zu klassischen Opioidrezeptor-Subtypen aufweist, wurde unabhängig voneinander von zwei unterschiedlichen Forschungsgruppen identifiziert und als Nozizeptin bzw. Orphanin FQ bezeichnet (Meunier et al., 1995; Ouagazzal, 2015; Reinscheid et al., 1995). Die Bezeichnung Nozizeptin geht dabei auf seine Fähigkeit zurück, nach intrazerebroventrikulärer Applikation bei Mäusen, die einer heißen Platte ausgesetzt waren, eine Hyperalgesie hervorzurufen (Meunier et al., 1995). Nozizeptin ist ein endogener Ligand des Opiatrezeptor-ähnlichen Rezeptors (ORL-1); Arjomand und Evans, 2001). Nozizeptin und ORL-1 werden nicht nur im gesamten ZNS, sondern auch in Teilen des peripheren Nervensystems, im Intestinaltrakt, Vas deferens, in der Milz und in Zellen des Immunsystems exprimiert (Tariq et al., 2013).

In vivo Experimente haben demonstriert, dass Nozizeptin über periphere und zentrale Neurotransmitterfreisetzung eine Vielzahl biologischer Funktionen moduliert, unter anderem Nahrungsaufnahme, Gedächtnisprozesse, kardiovaskuläre und renale Funktionen, spontane lokomotorische Aktivität, gastrointestinale Motilität, auditorische Verarbeitung, neuroendokrine Kontrolle, neuronale Entwicklung, Angst, Sucht und Schmerzempfindung (Blaveri et al., 2001; Calo et al., 2000; Mallimo und Kusnecov, 2013; Norton et al., 2002).

So konnte bei intrazerebroventrikulärer Applikation von Nozizeptin im Mausmodell – im Gegensatz zu klassischen Opioiden – eine induzierte Hyperalgesie nachgewiesen werden (Meunier et al., 1995). Bei Nozizeptin defizienten knockout Mäusen konnte gezeigt werden, dass sie eine erhöhte Stressanfälligkeit mit sensorischen, endokrinen und Verhaltenssymptomen zeigen und bei wiederholtem Stress adaptive Reaktionen beeinträchtigt sind (Reinscheid et al., 2000). Gleichzeitig wiesen sie eine verbesserte räumliche Aufmerksamkeitsgabe und ein besseres Gedächtnis auf (Reinscheid et al., 2000).

Das Nozizeptin/ Orphanin FQ– System hat sich, obwohl dem opioiden in vielen Weisen strukturell und funktionell ähnlich, zu einem selbstständigen System ausgeprägt, das seit seiner Entdeckung insbesondere bezüglich seiner Rolle bei

Schmerzempfindung und Analgesie ausführlich untersucht worden ist (Norton et al., 2002; Shieh und Pan, 2001).

1.3.2.1 Aufbau des Nozizeptins

Nozizeptin ist ein opioidpeptid-ähnliches Heptadekapeptid mit der primären Aminosäuresequenz Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln (Nothacker et al., 1996; Abbildung 9). Es ähnelt damit in gewissem Maße dem endogenen Opioidpeptid Dynorphin A, welches die gleiche Anzahl Aminosäuren enthält, über ein ähnliches Aminosäurenmuster am Aminoende verfügt, sowie ähnliche Gruppen positiver Ladungen im mittleren Bereich und am c-terminalen Ende aufweist. (Hiramatsu und Inoue, 1999; Mollereau et al., 1996; Norton et al., 2002).

Seine molekulare Masse beträgt durchschnittlich 1,810 g/ Mol (Meunier et al., 1995).

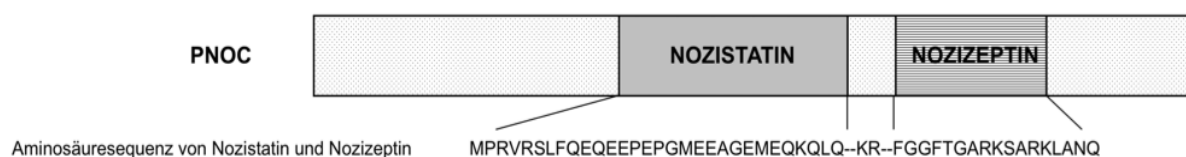


Abbildung 9: Aminosäuresequenzen von Nozistatin und Nozizeptin im PNOC (nach Imai et al., 2001)

1.3.2.2 Der Opiatrezeptor-ähnliche Rezeptor ORL-1 als Rezeptor für Nozizeptin

Nozizeptin bindet und wirkt an einem Rezeptor, der eine Ähnlichkeit zu Opiatrezeptoren aufweist und daher als Opiatrezeptor-ähnlicher Rezeptor (ORL-1) bezeichnet wird. Von mehreren Forschungsgruppen durchgeführte Screenings von cDNA Bibliotheken führten 1994 zu der Entdeckung des ORL-1 oder Nozizeptin Opioid Rezeptor (NOP), der ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor ist, strukturell eine durchschnittliche Homologie von 60% zu opioiden Rezeptoren aufweist und daher von manchen auch als OP-4 Rezeptor betrachtet wird, obwohl klassische Opioide ihn in niedrigen Konzentrationen nicht aktivieren (Daga und Zaveri, 2012; Toll et al., 2016). Das humane Gen ORL-1 liegt auf 20q13.33 und sein Polypeptid besteht aus 370 Aminosäuren, wobei sich am N-Terminus eine aus 44 Aminosäuren bestehende Region zur Glykosylierung befindet und der zweite und dritte intrazelluläre Loop durch Proteinkinasen phosphoryliert werden können (Tariq et al., 2013; Toll et al.,

2016). Trotz hoher Sequenzhomologie zu Opioidrezeptoren bestehen deutliche Unterschiede in der endogenen Ligandenselektivität mit erheblichen Änderungen der Struktur der Bindungstaschen: Die hohe Selektivität wird unter anderem auf drei Aminosäurenreste in der Bindungstasche zurückgeführt, die sich von anderen Opioidrezeptoren wie folgt unterscheidet: Ala216 (sonst Lysin), Gln280 (sonst His) und Thr305 (sonst Ile) (Schröder et al., 2014). Im Vergleich zu Opioidrezeptoren scheint die Verteilung des ORL-1 in einigen neuronalen Schaltkreisen ähnlich, in anderen unterschiedlich zu sein, was dabei dienlich sein kann nachzuvollziehen, warum ORL-1 und Opioidrezeptoren ähnliche, verschiedene oder sogar entgegengesetzte Effekte im Zentralnervensystem vermitteln (Calo et al., 2000). Ortsspezifisch beeinflusst seine Aktivierung bei Nagetieren die nozizeptive Transmission mit antinozizeptiven Effekten nach peripherer und spinaler Aktivierung und pronozizeptiven Effekten nach supraspinaler Aktivierung (Schröder et al., 2014). Ein Jahr nach der Entdeckung des ORL-1, der durch das Gen Opioid-receptor-like1 kodiert wird, konnte das Nozizeptin als endogener Agonist dieses Rezeptors, isoliert werden (Andero, 2015; Meunier et al., 1995; Reinscheid et al., 1995; Toll et al., 2016; Xuei et al., 2008).

Die Expression des ORL-1 ist in Neuronen des Zentralnervensystems umfassend verbreitet, was eine Beteiligung an multiplen neurologischen Funktionen nahelegt (Donica et al., 2013; Norton et al., 2002; Toll et al., 2016; Ouagazzal, 2015). Das Nozizeptin/ ORL-1- System scheint ebenfalls eine Rolle in immunologischen und kardiovaskulären Funktionen, Schmerzempfinden, Depression, Drogenabusus und Angst zu spielen (Bodnar, 2013; Gavioli und Calo, 2013; Mallimo und Kusnecov, 2013; Minami et al., 1998; Xuei et al., 2008). Im Gegensatz zu anderen Opioiden vermag eine Aktivierung des Nozizeptin/ORL-1- Mechanismus auch Gedächtnisfunktionen zu beeinträchtigen, während antagonistische Liganden diesen Effekt blockieren (Andero, 2015). In den letzten Jahren hat der Zusammenhang zwischen ORL-1 und Gedächtnisfunktionen, insbesondere dem räumlichen Gedächtnis, zunehmend wissenschaftliche Beachtung erfahren (Kuzmin et al., 2009, siehe Kapitel 1.3.2.4).

Besonders hoch liegt die Verteilung von ORL-1 in kortikolimbischen Regionen, Hippokampus, Amygdala, dem Hypothalamus, verschiedenen Hirnstammkernen (u. a. in dorsalen Raphekernen) und im Rückenmark (Calo et al., 2000; Donica et al., 2013; Ouagazzal, 2015; Witkin et al., 2014). Die Dichte der mRNA (messenger

Ribonukleinsäure) befindet sich mit 80-85% in den dopaminreichen Regionen wie dem ventralen tegmental Areal und in der Substantia nigra in einem sehr hohen Bereich (Norton et al., 2002).

Der aktivierte ORL-1 löst eine Vielzahl von intrazellulären Signalkaskaden aus: Nach agonistischer, reversibler Bindung reduziert er als G-Protein gekoppelter Rezeptor (GPCR) die Aktivierung der Adenylatzyklase und von Kalziumkanälen, während er durch die gesteigerte Leitfähigkeit von Kaliumkanälen zu einem extrazellulär gerichteten Kaliumfluss führt und mit diesem Mechanismus demjenigen der Opioidrezeptoren gleicht (Calo et al., 2000; Narayanan et al., 2004; Tariq et al., 2013). Außerdem vermag er die Transkriptionsfaktoren NF- κ B und STAT3, Kinasen und Phospholipasen zu aktivieren (Arjomand und Evans, 2001; Donica et al., 2013; Schröder et al., 2014). Die Kinase- und Kanalmodulation durch Nozizeptin lässt sich seiner Fähigkeit zuordnen die Freisetzung von Neurotransmittern und transkriptionale Aktivierung zu regulieren (Donica et al., 2013). Seine Aktivierung reduziert die Freisetzung von Neurotransmittern, wodurch er seine biologischen Funktionen wie Nozizeption, Angst und Belohnung moduliert (Schröder et al., 2014; Witkin et al., 2014). Diese inhibitorische Wirkung zeigt sich unter anderem bei der verringerten Ausschüttung von Noradrenalin im Kortex, Zerebellum und in hippokampalen und hypothalamischen Strukturen, sowie bei der verringerten Ausschüttung von Glutamat in Neuronen der Amygdala und des Zerebellums und lässt sich durch Naloxon nicht beeinflussen (Andero, 2015; Calo et al., 2000; Reinscheid, 2006). Die Ausschüttung von Dopamin, Serotonin und Azetylcholin wird durch ihn ebenfalls negativ beeinflusst (Donica et al., 2013; Schröder et al., 2014).

Es besteht eine hohe Homologie der funktionellen Architektur der Transmembranhelizes und der intrazellulären Loops zwischen ORL-1 und anderen Opioidrezeptoren (Daga und Zaveri, 2012; Schröder et al., 2014). Als Rhodopsin-assoziiertes GPCR der Klasse A stimmen zwischen ORL-1 und μ -, δ - und κ -Opioidrezeptoren mehr als 70% der Aminosäurenreste der zweiten, dritten und siebten Transmembranhelix überein, während sie in den extrazellulären Loops keine starke Ähnlichkeit aufweisen (Toll et al., 2016). Insbesondere der extrazelluläre Loop ECL2, das bei der Rezeptoraktivierung eine entscheidende Rolle spielt, ist in seiner Primärstruktur einzigartig unter den Opioidrezeptoren (Daga und Zaveri, 2012; Witkin et al., 2014). Die Region der Ligandenbindung liegt innerhalb der Transmembranhelices, wobei Reste der Transmembranhelix 3, 5, 6 und 7 mit dem

Liganden dort wechselwirken. In der Darstellung der tertiären Struktur des Komplexes des Nozizeptins mit einem Homologiemodell des ORL-1 zeigt sich, dass die n-terminale Sequenz Phe-Gly-Gly-Phe des Nozizeptins tief in der Transmembranbindungstasche bindet (Abbildung 10; Toll et al., 2016).

In der Literatur sind eine Vielzahl von agonistischen und antagonistischen ORL-1 Liganden beschrieben, unter denen sich sowohl kleinmolekulare Stoffe als auch Peptide befinden (Calo et al., 2000; Daga und Zaveri, 2012; Toll et al., 2016; Witkin et al., 2014). Zu ihnen gehören unter anderem Piperidine, Nortropane, Spiroperidine, 4-Aminoquinoline und Quinazoline (Tariq et al., 2013). Sie wurden sowohl in vitro als auch in vivo untersucht, um ihr therapeutisches Potential zu eruieren, jedoch bislang ohne valide Ergebnisse (Witkin et al., 2014). Hierunter zählen dem Nozizeptin verwandte Peptide wie beispielsweise das antagonistisch wirkende N/OFQ(1-13)-NH₂, das die kürzeste Version des Nozizeptins darstellt, welches in vivo und in vitro noch die maximale Affinität für ORL-1 beibehält und von dem nachgewiesen werden konnte, dass es die cholinerge Neurotransmission im Hippokampus inhibiert (Andero, 2015; Calo et al., 2000).

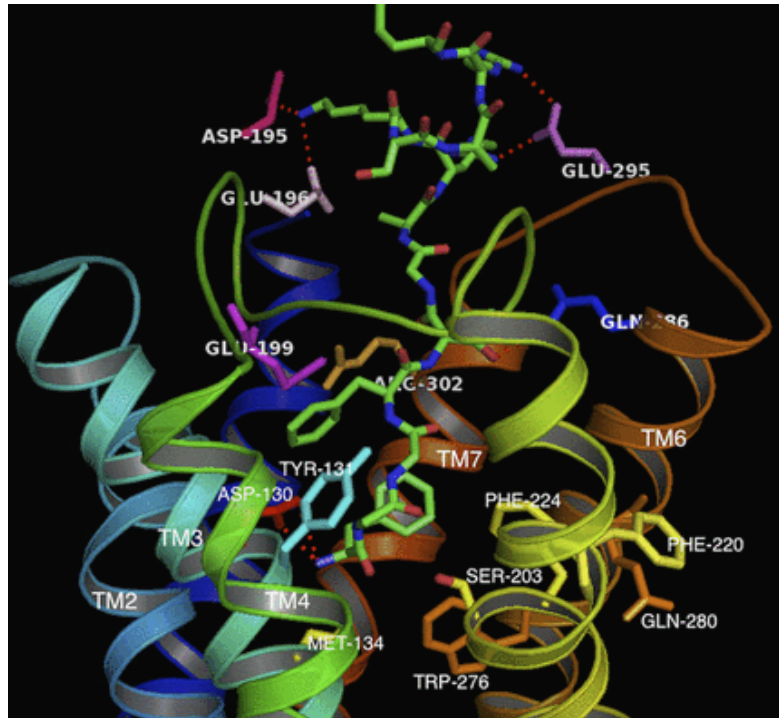


Abbildung 10: Bindung von Nozizeptin/ Orphanin FQ an einem homologen Modell des ORL-1 (Toll et al., 2016)

Analog zur zellulären Regulation anderer GPCR kann ORL-1 über den Prozess der homologen Desensibilisierung reguliert werden, bei dem eine verminderte Ansprechempfindlichkeit des Rezeptors aus einer anhaltenden Exposition gegenüber seinen Agonisten resultiert (Donica et al., 2013). Dies erfolgt über die Schritte Phosphorylierung, Internalisierung und Downregulation (Schröder et al., 2014).

Neben der homologen Regulation erfolgt die heterologe Regulation des ORL-1 zellspezifisch und kann die Rezeptoraktivität und/ oder Expression erhöhen oder verringern. Die resultierende Desensibilisierung des Rezeptors ist ein Zustand der reduzierten Ansprechempfindlichkeit gegenüber seines Agonistens aufgrund der Aktivierung eines zweiten Rezeptorsystems (Toll et al., 2015). Dies kann durch einen einfachen heterologen Effekt oder durch heterologe Modulation homologer Desensibilisierung erfolgen (Donica et al., 2013).

Es hat sich gezeigt, dass sich Heterodimere aus ORL-1 und μ -, δ -, und κ -Opioidrezeptoren bilden können, die zu einer Veränderung der vermittelten biologischen Effekte führen, z. B. antiopioid wirken können (Evans et al., 2010; Schröder et al., 2014). So hat eine Untersuchung mit einem gegen das Heterodimer aus μ -Opioidrezeptor und ORL-1 gerichteten Stoff demonstriert, dass eine vollständige analgetische Antwort ohne die Nebenwirkungen von Opioiden erfolgt (Majumdar et al., 2011). Darüber hinaus führte in Zellen, die einen Opioidrezeptor und ORL-1 exprimierten, eine durch Applikation von Nozizeptin hergestellte, verlängerte ORL-1 Aktivierung zu einer Internalisierung der Opioidrezeptoren und umgekehrt eine Aktivierung der Opioidrezeptoren zur Internalisierung von ORL-1 (Evans et al., 2010). Diese Befunde deuten stark darauf hin, dass sich die pharmakologischen und signalgebenden Eigenschaften der Rezeptor-Heterodimere von denen der einzelnen Rezeptoren unterscheiden (Schröder et al., 2014).

1.3.2.3 Nozizeptin und Dopamin

Der ORL-1 ist in dopaminreichen Regionen wie dem ventral tegmental Areal und der Substantia nigra besonders dicht exprimiert (Maidment et al., 2002; Norton et al., 2002). Nozizeptin bewirkt über die Aktivierung des ORL-1 eine direkte Hemmung dopaminerger Aktivität in Neuronen (Norton et al., 2002) und kann damit die dortige dopaminerge Neurotransmission vermindern (Narayanan et al., 2004; Toll et al., 2016). Bei intrazerebroventrikulärer oder intraventral-tegmentaler Injektion von Nozizeptin in Ratten konnte nicht nur eine Verringerung der basalen motorischen

Aktivität und des basalen, extrazellulären Dopaminspiegels im Nukleus accumbens nachgewiesen, sondern auch eine Verminderung des Kokain- und Apomorphin-induzierten Dopaminniveaus gezeigt werden (Lutty et al., 2001; Narayanan et al., 2004; Toll et al., 2016).

Während intrazerebroventrikuläre Verabreichung von Nozizeptin einen durch Morphin induzierten Anstieg des extrazellulären Dopamins im ventralen Striatum verminderte, zeigte es im dorsalen Striatum keinen signifikanten Effekt auf den Dopaminspiegel (Di Giannuario und Pieretti 2000). Die Vermutung einer bevorzugten Aktivität des Nozizeptins auf der mesoaccumbalen gegenüber der nigrostriatalen, dopaminergen Achse konnte von Narayanan et al. bestätigt werden, indem gezeigt wurde, dass durch Injektion von Nozizeptin in das ventral tegmentale Areal und in geringerem Ausmaß in den Nukleus accumbens eine verminderte motorische Aktivität gemessen wurde, während keine signifikante Suppression der Motorik nach Injektion in die Substantia nigra oder das Striatum auftrat (Narayanan et al., 2004).

Weiterhin besteht ein regulatorischer Einfluss von Nozizeptin auf die Sekretion von Prolaktin, der ebenfalls auf einer Interaktion über das dopaminerge Systems beruht (Chesterfield et al., 2006). So kann Nozizeptin einen hyperpolarisierenden Effekt im Nukleus arcuatus auf Tyrosinhydroxylase-, β -Endorphin- und Gonadotropin-releasing Hormon – reaktive Neurone besitzen und damit inhibitorisch auf dopaminerge Neurone des tuberoinfundibulären Systems wirken, aus dem eine erhöhte Sekretion von Prolaktin resultiert (Shieh und Pan, 2001).

1.3.2.4 Nozizeptin, ORL-1 und Kognition

Die Verteilung von mRNA des ORL-1 in kortikalen und limbischen Regionen des Gehirns legt bereits die Vermutung nahe, dass das Nozizeptin-System an kognitiven und mnestischen Funktionen, sowie an Aufmerksamkeitsprozessen beteiligt ist (Noda et al., 2000; Ouagazzal, 2015). Eine beeinflussende Rolle des Nozizeptin/ORL-1- Rezeptorsystems auf kognitive Fähigkeiten wird allgemein angenommen, jedoch sind die präzisen Mechanismen nicht gänzlich verstanden (Goeldner et al., 2009; Hiramatsu und Inoue, 1999). Es scheinen Interaktionen mit Neurotransmittersystemen zu bestehen, bei denen NMDA- Rezeptoren, Azetylcholin und Noradrenalin beteiligt sind (Cavallini et al., 2003; Kawahara et al., 2004). Eine Studie von Sandin et al. konnte zeigen, dass in die CA3-Region des Hippokampus injiziertes Nozizeptin die Fähigkeit des räumlichen Lernens bei adulten Ratten

beeinträchtigt (Sandin et al., 1997). Eine Funktion des Nozizeptins als inhibitorischer Modulator, der die synaptische Transmission und Plastizität im Hippokampus reguliert, wäre hierfür ein möglicher Erklärungsansatz und konnte in einem in vitro Experiment an hippokampalen Schnitten der Ratte nachvollzogen werden (Yu et al., 1997). Im Einklang mit diesen Ergebnissen konnte von Manabe et al. gezeigt werden, dass ORL-1 knockout- Mäuse eine größere Lernfähigkeit und bessere Gedächtnisleistung, sowie eine höhere Langzeitpotenzierung im hippokampalen CA1- Feld als Wildtyp- Kontrollmäuse haben (Manabe et al., 1998). Auf dieser Erkenntnis aufbauend zeigte sich in folgenden Studien, dass die Injektion von Nozizeptin selbst bei Wildtypmäusen eine Beeinträchtigung im Passive Avoidance Test, der eine Einschätzung von Langzeitgedächtnisprozessen erlaubt, hervorruft (Noda et al., 2000). Auch in einer das räumliche Gedächtnis testenden Untersuchung konnten nach Injektion von Nozizeptin in Mäusen Beeinträchtigungen im Y-Maze gefunden werden (Hiramatsu und Inoue, 1999). In einem Review von Andero werden weitere tierexperimentelle Studien betrachtet, aus denen eine Beteiligung des Nozizeptin/ ORL-1- Systems an beeinträchtigten Lern- und Gedächtnisfunktionen ersichtlich wird (Andero, 2015). Beispielsweise wurden in einer Untersuchung von Kuzmin und Kollegen an Mäusen, denen intravenös sowie beidseitig intrahippokampal Nozizeptin injiziert wurde, verzögerte Laufzeiten in einem Wasserlabyrinth festgestellt (Kuzmin et al., 2009).

Das ebenfalls von PNOC kodierte Nozistatin hingegen scheint als Gegenspieler des Nozizeptins an Lern- und Gedächtnisprozesse beteiligt zu sein (Hiramatsu und Inoue, 1999; Okuda-Ashitaka und Ito, 2015)

Zusammenfassend ergeben sich Hinweise, dass das Nozizeptin/ ORL-1- System einen negativen Einfluss auf die synaptische Plastizität bei Lern- und Gedächtnisprozessen auszuüben scheint, sowie dass ORL-1- Antagonisten potentielle Wirkstoffe zur Linderung von Gedächtnisstörungen darstellen könnten (Andero, 2015; Calo et al., 2000; Mallimo und Kusnecov, 2013).

1.3.2.5 Nozizeptin, ORL-1 und Schizophrenie

Das PNOC-Gen ist im Bereich 8p22-21.1 lokalisiert, der als mit Schizophrenie gekoppelt identifiziert wurde (Blaveri et al., 2001; Blouin et al., 1998; Gurling et al., 2001; Holmans et al., 2009; Pulver, 2000; Suarez et al., 2006). Ein Großteil des aktuellen Wissensstands über das ORL-1- System beruht noch auf präklinischer

Forschung (Khan et al., 2018). Im Hinblick auf die Pathogenese der Schizophrenie könnte das ORL-1- System jedoch bedeutsam sein, da es an wichtigen Neurotransmittersystemen und Symptomclustern beteiligt ist, die für dieses Krankheitsbild besonders relevant sind. Hierzu gehören der Dopamin- und auch der Glutamathaushalt, wobei eine Aktivierung des ORL-1- Systems im Allgemeinen eine verringerte Übertragung beider Neurotransmitter bewirkt (Narayanan et al., 2004; Toll et al., 2016). Desweiteren stellt (psychosozialer) Stress einen kritischen Risikofaktor für Erstauftreten, aber auch Rezidiv der Erkrankung dar (Hida et al., 2013; Maynard et al., 2001). Es gibt Hinweise darauf, dass das ORL-1- System aufgrund einer Dysregulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse auch direkt an der Stressmodulation beteiligt ist. Bei Schizophreniepatienten konnte eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Stress nachgewiesen werden (Walker et al., 2008). Eine Beeinflussung der Stressachse durch Nozizeptin konnte im Rattenmodell anhand erhöhter Werte von Kortikosteron und adrenokortikotropem Hormon aufgezeigt werden. (Khan et al., 2018).

Das Nozizeptin/ ORL-1- System kann auch an beeinträchtigten Lern- und Gedächtnisfunktionen beteiligt sein (Kapitel 1.3.2.4). Kognitive Defizite, insbesondere des Arbeitsgedächtnisses, sind ein häufiger, aber kein spezifischer Befund bei Schizophreniepatienten und können in funktionellen Bildgebungsverfahren abgebildet werden (Barch und Ceaser, 2012; Goghari et al., 2014; Heinrich und Zakzanis, 1998).

1.3.3 Genprodukte Nozistatin und Orphanin FQ2 (OFQ-2)

Nozistatin

Aus dem PNOC Prekursorpeptid wurde neben dem Nozizeptin, flankiert von zwei basischen Resten, nach posttranslationaler Prozessierung ein Peptid namens Nozistatin aus dem ZNS der Ratte, Maus und des Menschen isoliert (Arjomand und Evans, 2001; Mallimo und Kusnecov, 2013; Neal et al., 2003). Seine humane Aminosäuresequenz lautet: Thr-Glu-Pro-Gly-Leu-Glu-Glu-Val-Gly-Glu-Ile-Glu-Gln-Lys-Gln-Leu-Gln. Das Hexapeptid des C-Terminals (Glu-Gln-Lys-Gln-Leu-Gln) von Nozistatin besitzt im Menschen eine biologische Aktivität, jedoch sind Rezeptor- und Transduktionsmechanismen nicht identifiziert (Amadeo et al., 2002; Fantin et al., 2007; Minami et al., 1998). Es vermag einige durch Nozizeptin induzierte Wirkungen umzukehren, scheint per se jedoch inaktiv zu sein (Calo et al., 2000).

Im Gegensatz zum Nozizeptin sind die Aminosäuresequenzen des Prepronozizeptins, die dem Nozistatin entsprechen, unter den verschiedenen Spezies nicht einheitlich (Okuda-Ashitaka und Ito, 2015). Bei Mensch, Ratte und Maus besteht es beispielsweise aus 30, 35 bzw. 41 Aminosäuren (Tariq et al., 2013). Die bovine Form des Nozistatins scheint speziesspezifisch zu sein, da beim Menschen, Ratte, Maus und Schwein das basische Aminosäurenpaar Lys-Arg, welches für die Prozessierung des Prekursors benötigt wird, fehlt, während es beim Rind an Positionen 109,110 und 128,129 steht (Minami et al., 1998).

Die Wirkungen von Nozistatin werden durch noch nicht charakterisierte Rezeptoren vermittelt, die sich von dem ORL-1 unterscheiden (Fantin et al., 2007; Okuda-Ashitaka und Ito, 2015; Tariq et al., 2013). Obwohl Nozistatin in vitro nicht mit den Bindungen von Nozizeptin an den ORL-1 oder den durch Nozizeptin induzierten intrazellulären Signalwegen interferiert, blockiert es in vivo die Nozizeptin induzierte Schmerztransmission (Okuda-Ashitaka et al., 2012). Insbesondere diese zum Nozizeptin gegenteilig stehende Beteiligung von Nozistatin an der Transmission von Schmerzvorgängen ist bislang untersucht (Okuda-Ashitaka und Ito, 2015).

Es konnte gezeigt werden, dass nach intrathekaler Verabreichung von Nozistatin eine zuvor durch Nozizeptin und Prostaglandin E₂ induzierte Hyperalgesie und Allodynie, sowie bei Ratten die Glutamatfreisetzung in Kortizes und eine durch Nozizeptin hervorgerufene Gedächtnisstörung nicht auftritt (Amodeo et al., 2000; Hiramatsu und Inoue, 1999; Minami et al., 1998). Von Okuda-Ashitaka und Kollegen wurde bei der Suche nach potentiellen Bindungspartnern des Nozistatins das Protein Nipsnap Homolog 1 (NIPSNAP1) entdeckt: Bei NIPSNAP1 knockout-Mäusen konnte durch Nozistatin keine Hemmung der durch Nozizeptin induzierten taktilen Allodynie hervorgerufen werden (Okuda-Ashitaka et al., 2012). Daraus geht hervor, dass Gewebe, die in der Lage sind Nozizeptin zu produzieren und freizusetzen, ebenfalls einen potentiellen Antagonisten erzeugen, allerdings sind relative Mengen und genaue Mechanismen und deren Lokalisationen derzeit unklar (Schröder et al., 2014).

Nozistatin selbst ist außerdem an weiteren, zentralen Nervenfunktionen wie Lernen und Gedächtnis, Fütterung und Angst beteiligt, jedoch sind seine Mechanismen der Regulation und die genauen molekularen Ziele unbekannt (Okuda-Ashitaka et al., 2012).

Orphanin FQ2 (OFQ-2)

Ebenfalls aus dem Prekursor Prepronozizeptin entsteht das wenig untersuchte Heptadekapeptid Orphanin FQ2 (OFQ-2), das unmittelbar nachgeschaltet der Sequenz für Nozizeptin liegt (Calo et al., 2000; Mallimo und Kusnecov, 2013). Es besteht aus den Aminosäuren Phe-Ser-Glu-Phe-Met-Arg-Gln-Tyr-Leu-Val-Leu-Ser-Met-Gln-Ser-Ser-Gln (Rossi et al., 1998). Es konnte durch kernmagnetische Studien und theoretische Berechnungen eine wohldefinierte Helixstruktur von Met5 bis Ser16 ermittelt werden, wobei die gleichmäßige Verteilung hydrophober Reste entlang der Helix nahelegt, dass OFQ-2 mit den Transmembran-Helizes eines Rezeptors wechselwirken kann, die mit denen von ORL-1 und Opioidrezeptoren verwandt sind (Amodeo et al., 2000). Es ähnelt lediglich N-terminal dem Nozizeptin und Dynorphin A und besitzt antinozizeptive Wirkungen (Rossi et al., 1998). Im Gegensatz zu den nozizeptiven Effekten des Nozizeptins stellt OFQ-2 sowohl nach supraspinaler als auch spinaler Verabreichung ein potentes Analgetikum dar, wobei seine supraspinale Wirkung durch Naloxon aufgehoben werden kann (Amodeo et al., 2000; Rossi et al., 1998). Die endogene, C-terminale Verlängerung des OFQ-2 um 11 Aminosäuren wurde jedoch mit antinozizeptiven und nozizeptiven Eigenschaften, sowie mit einer schmerzmodulierenden Funktion in Amygdala, periaquätalem Grau und rostroventromedialer Medulla in Verbindung gebracht (Neal et al., 2003).

Außerdem vermag es lokomotorische Aktivität in Nagetieren zu stimulieren sowie einen inhibitorischen Effekt auf die Magendarmpassage auszuüben (Calo et al., 2000; Rossi et al., 1998). Seine Aktivität wird weder über μ -, δ - oder κ -Opioidrezeptoren noch den ORL-1 vermittelt, sondern es scheint ein spezifischer Rezeptor für OFQ-2 zu existieren (Rossi et al., 1998; Amodeo et al., 2000). Sein genauer zellulärer Zielort ist unbekannt (Schröder et al., 2014).

Das ORL-1- System lässt sich sowohl mit Kognition als auch mit der Erkrankung der Schizophrenie in Zusammenhang bringen. Es gibt einerseits Hinweise darauf, dass das ORL-1- System die synaptische Plastizität bei Lern- und Gedächtnisprozessen negativ beeinflusst. Andererseits wurde PNOC als potentieller Kandidatengenen für Schizophrenie angesehen, da es im Bereich 8p22-21.1 lokalisiert ist, der als mit Schizophrenie gekoppelt identifiziert wurde.

1.4 Fragestellung

An der multifaktoriellen Ätiopathogenese der Schizophrenie sind genetische Faktoren maßgeblich beteiligt, die im Rahmen von Fall-Kontrollstudien seit dem letzten Jahrzehnt Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen sind.

Das PNOC-Gen wurde in Kopplungsstudien bereits als positionelles Kandidatengen für Schizophrenie identifiziert. Da seine Genprodukte zudem spezifische Neurotransmittersysteme regulieren, die an der Ätiopathogenese der Schizophrenie beteiligt sein können, erscheint eine genauere Untersuchung dieses Gens plausibel. Das von ihm kodierte Neuropeptid Nozizeptin zeigt in monoaminen Transmittersystemen überwiegend eine inhibitorische Wirkung und beeinflusst möglicherweise kognitive Fähigkeiten, die als charakteristische Manifestation der Schizophrenie angesehen werden.

Ziel dieser Arbeit ist einerseits, in einer Fall-Kontrollstudie sieben SNPs des auf dem Chromosom 8p21 liegenden PNOC-Gens auf eine Assoziation mit der Schizophrenie hin zu untersuchen und andererseits einen möglichen Einfluss dieser sieben SNPs auf kognitive Funktionen, die mithilfe der Wechsler Memory Scale ermittelt wurden, im Rahmen einer Endophänotypenstudie zu überprüfen. In die Fall-Kontrollstudie wurden 510 Schizophreniepatienten und 1321 gesunde Kontrollprobanden eingeschlossen. Anhand der neuropsychologischen Testbatterie WMS-R wurden bei 178 Schizophreniepatienten und 346 gesunden Kontrollprobanden die Haplotypen, Genotyp- und Allelfrequenzen mittels iPLEX Verfahren bestimmt und miteinander verglichen.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studiendesign und Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die vorliegende Untersuchung wurde als Fall-Kontroll-Assoziationsstudie entworfen. Es wurde der Zusammenhang zwischen sieben Basenaustauschpolymorphismen des PNOC-Gens und der Schizophrenie an 510 Schizophreniepatienten und 1321 gesunden Kontrollprobanden untersucht (Tabelle 8).

Tabelle 8: Überblick Patienten- und Kontrollprobandenkollektiv der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

	Mittleres Alter J (SD)	Geschlecht n (%)		Bildung n (%)			Gesamt n
		männlich	weiblich	1	2	3	
Kontrollen	46,29 (15,694)	608 (46,0)	713 (54,0)	296 (22,4)	436 (33,0)	589 (44,6)	1321
Patienten	37,68 (11,353)	332 (65,1)	178 (35,0)	219 (43,0)	133 (26,1)	158 (31,0)	510
Gesamt n (%)	43,89 (15,114)	940 (51,3)	891 (48,7)	515 (28,1)	567 (31,0)	747 (40,8)	1831

(1=Hauptschulabschluss; 2=mittlere Reife; 3=Abitur; J=Jahre; SD=Standardabweichung; n=Anzahl)

In einer 178 Schizophreniepatienten sowie 346 gesunde Kontrollprobanden umfassenden Subgruppe wurde die neuropsychologische Testbatterie WMS-R durchgeführt, um einen Zusammenhang der Polymorphismen mit kognitiven Endophänotypen in der Gesamtgruppe zu untersuchen (Tabelle 9).

Tabelle 9: Überblick Subkollektiv zur Untersuchung kognitiver Endophänotypen

	Mittleres Alter J (SD)	Geschlecht n (%)		Bildung n (%)			Gesamt n
		männlich	weiblich	1	2	3	
Kontrollen	48,20 (14,813)	164 (47,4)	182 (52,6)	69 (20,0)	124 (35,8)	153 (44,2)	346
Patienten	38,89 (10,415)	113 (63,5)	65 (36,5)	64 (36,0)	48 (27,0)	66 (37,1)	178
Gesamt n (%)	45,04 (14,175)	277 (52,9)	247 (47,1)	133 (25,4)	172 (32,8)	219 (41,8)	524

(1=Hauptschulabschluss; 2=mittlere Reife; 3=Abitur; J=Jahre; SD=Standardabweichung; n=Anzahl)

Für die genetische Untersuchung wurde allen Teilnehmern Blut abgenommen. Die SNPs rs2722897, rs1563945, rs2722900, rs2614100, rs2280928, rs351784 und

rs904053 auf dem PNOC-Gen wurden genotypisiert und deren Assoziation zur Schizophrenie und dem Endophänotyp Gedächtnis anhand der WMS-R analysiert. Diese Studie wurde in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der LMU München unter Zustimmung der dortigen Ethikkommission als Teil einer großen Studie zur Schizophrenie durchgeführt. Alle Studienteilnehmer beteiligten sich freiwillig und wurden über die anonymisierte Verwendung ihrer Daten und Blutproben unterrichtet.

2.2 Gesunde Studienteilnehmer

2.2.1 Auswahl gesunder Kontrollprobanden

Das Kontrollkollektiv gesunder Studienteilnehmer bestand aus zufällig aus dem Register des Einwohnermeldeamtes der Stadt München ausgewählten Personen deutscher Herkunft. Diese wurden postalisch zur Studienteilnahme eingeladen und nach bekundetem Einverständnis einem Telefonscreening zugeführt.

Hierin wurde Ablauf und Inhalt der Studie erläutert und nach bekannten Erkrankungen hirnnorganischer und psychiatrischer Art, wie dem Auftreten manischer und/ oder depressiver Phasen, Angst-, Essstörungen und Suizidalität bei den Kontrollprobanden selbst sowie bei Verwandten ersten Grades gefragt. Sofern dies telefonisch verneint werden konnten, wurde im Anschluss ein ausführlicher Anamnesebogen übersendet.

In diesem wurden systematisch psychiatrische, neurologische und relevante somatische Erkrankungen, Sozialanamnese, Arztbesuche und Krankenhausaufenthalte sowie stattgefundene psychotherapeutische Behandlungen abgefragt, um affektive und psychotische Störungen und Suizidalität auszuschließen. Zum Studienausschluss führten außerdem ein Alkohol-, Drogen- und Medikamentenabusus, Schädel-Hirn-Trauma, aktuelle Infektionskrankheiten und schwere somatische und Tumorerkrankungen. Ebenfalls wurde erneut nach psychiatrischen und neurologischen Erkrankungen bei Verwandten ersten Grades gefragt. Sofern weder bei dem Probanden noch bei Verwandten Anzeichen für ein psychiatrisches Krankheitsbild jeglicher Art bestanden, wurden die Probanden zur Vornahme weiterer Untersuchungen in die Klinik eingeladen.

2.2.2 Neurologische Untersuchung

Die einbestellten Kontrollprobanden wurden standardisiert klinisch untersucht. Es wurde zunächst eine ausführliche, neurologisch betonte Anamnese erhoben, wobei gezielt nach motorischen und sensiblen Nervenstörungen, akustischen und optischen Beeinträchtigungen, sowie nach dem Auftreten von Konvulsionen, Zephalgien, Vertigo und Blasenentleerungsbeschwerden gefragt wurde. Anschließend wurden die Probanden einer körperlichen Untersuchung zugeführt, in der Hirnnerven, Reflexe, Sensibilität, Motorik und Koordination überprüft wurden.

2.2.3 Mini-Mental-State-Test

Der Mini-Mental-State-Test (MMST) nach Folstein (Folstein et al., 1990) ist ein schnell durchführbarer Test und dient der groben Einschätzung kognitiver Fähigkeiten. In ihm werden die Aufgabenfelder Orientierung, Aufnahmefähigkeit, Aufmerksamkeit, Rechnen, Gedächtnis, Sprache, Ausführung einer Anweisung, Lesen, Schreiben und konstruktive Praxie überprüft. Es können maximal 30 Punkte erreicht werden. Bei allen Kontrollprobanden dieser Studie, die das 60. Lebensjahr überschritten hatten, wurde der MMST durchgeführt. Ein Ergebnis unter 27 Punkten führte zum Studienausschluss.

2.2.4 Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV

Das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV (SKID; Wittchen et al., 1997) wurde mit den Studienteilnehmern in der Screeningversion (SKID-I), sowie in der ausführlichen Version (SKID-II) durchgeführt. Zur Erfassung und Diagnostik psychologischer Störungen und Syndrome, die gemäß DSM-IV der Achse I zugeschrieben werden, diente SKID-I. Hierunter fallen Angststörungen, affektive Störungen, psychotische Störungen, Störungen durch psychotrope Substanzen, somatoforme Störungen, Essstörungen und Anpassungsstörungen.

Das SKID-II (Wittchen et al., 1997) dient der Darlegung möglicher Persönlichkeitsstörungen, die laut DSM-IV-Klassifikation der Achse II angehören und derer, die im Anhang des DSM-IV aufgeführt sind. Insgesamt werden folgende Persönlichkeitsstörungen eruiert: selbstunsichere, dependente, zwanghafte, negativistische, depressive, paranoide, schizotypische, schizoide, histrionische, narzisstische, antisoziale und Borderline. Im SKID-II wird zweistufig verfahren. Es

erfolgt zunächst ein Interview, das als Screening auf die zwölf genannten Persönlichkeitsstörungen zu verstehen ist. Im anschließenden Interview wird lediglich auf die mit „ja“ angekreuzten, also auffälligen, Items eingegangen. Somit ist eine schnelle und valide Diagnosestellung möglich. Sofern eine Störung der Achse I und/oder II bzw. eine somatische Erkrankung vorlag, wurden die Kontrollprobanden aus der Studie ausgeschlossen.

2.2.5 Family History Assessment Module

Das Family History Assessment Module (FHAM) ist ein Verfahren, um mögliche psychiatrische Erkrankungen bei Verwandten ersten Grades der Kontrollprobanden zu ermitteln (Rice et al., 1995). Es wurde nach Alkohol-, Drogen- und Medikamentenmissbrauch, depressiven und manischen Verstimmungen, antisozialen Neigungen, neurotischen Störungen, Wahrnehmen psychiatrischen Beistands, sowie stationären Aufenthalten in psychiatrischen Kliniken bei Familienmitgliedern gefragt. Wurde eine positive psychiatrische Familienanamnese bis zu einer Verwandtschaft dritten Grades offensichtlich, erfolgte ein Studienausschluss dieser Probanden.

2.3 Studienteilnehmer mit Schizophrenie

2.3.1 Standardisierte Anamneseerhebung

Zu Beginn wurde eine standardisierte Anamnese erhoben, die die vollständige Krankengeschichte seit der Kindheit dokumentieren sollte. Sie umfasste jegliche bekannte, somatische und psychiatrische Erkrankungen, ambulante und stationäre Therapien, Medikamenteneinnahme, Suchtverhalten (Nikotin-, Alkohol-, Drogenkonsum), Suizidalität, soziales Umfeld (familiäre, finanzielle Situation und Wohnsituation) und schulische und berufliche Karriere. Patienten, bei denen die Krankheitsmanifestation der Schizophrenie als eine Folge eines Substanzmittelabusus nicht ausgeschlossen werden konnte, wurden aus der Studie ausgeschlossen.

2.3.2 Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV

Das SKID-I wurde zur Sicherung der Diagnose Schizophrenie durchgeführt. Diese wurde mittels des Klassifikationssystems DSM-IV (APA, 2000) bei den Patienten

überprüft. Laut DSM-IV sind die Schizophrenie bezeichnende Symptome Wahn, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, desorganisiertes oder katatones Verhalten und negative Symptome wie Affektverflachung, Allogie oder Abulie. Mit diesen Kriterien geht eine ausgeprägte berufliche und soziale Funktionsstörung einher. Die Diagnose gilt als gesichert, sobald zwei von oben genannten fünf Charakteristika innerhalb eines Monats erfüllt sind. Ebenso kann ein Symptombereich genügen, sofern Wahnphänomene bizarr sind oder bei Halluzinationen kommentierende oder dialogisierende Stimmen auftreten. Weiterhin soll dem klinischen Krankheitsbild weder eine schizoaffektive Störung oder eine affektive Störung mit psychotischen Merkmalen zugrunde liegen, noch auf einem Substanzmissbrauch oder einer anderen organischen Ursache beruhen, denn dies kann schizoide Symptome hervorrufen und somit eine Schizophrenie vortäuschen.

Patienten, die gemäß DSM-IV nicht an einer Schizophrenie litten, sowie Patienten mit florider Hepatitis B und/ oder C, HIV-Positivität oder einem Hinweis auf stattgefundenen oder aktuellen, intravenösen Heroinkonsum wurden von der Studie ausgeschlossen.

Hiernach konnte eine Untergliederung in eine paranoide, katatone, desorganisierte, undifferenzierte und residuale Schizophrenie vorgenommen werden. Zudem wurde anhand des bisherigen Verlaufs und der aktuellen Konstitution des Patienten der Schweregrad der Erkrankung eingeschätzt. Es wurde außerdem nach Komorbiditäten wie Drogen- und Alkoholkonsum, posttraumatischen Belastungsstörungen, somatoformen Störungen sowie Panik-, Zwangs-, Ess- und Anpassungsstörungen gefragt.

2.3.3 Family History Assessment Module

Wie bei den gesunden Kontrollprobanden erfolgte auch bei den Schizophreniepatienten das Abfragen der Items des FHAM (Kapitel 2.2.5), obgleich hier kein Ergebnis zu einem Ausschluss der Patienten führte.

2.4 Die Wechsler Memory Scale Revised

Die kognitive Leistungsfähigkeit der Patienten, insbesondere die Gedächtnisfunktion, wurde mithilfe des Gedächtnistests Wechsler Memory Scale Revised (WMS-R) untersucht. In der vorliegenden Studie wurde die deutsche Version der revidierten

Fassung der WMS verwendet (Härting et al., 2000). Ablauf und Beurteilung richteten sich nach dem entsprechenden Manual.

Mit der WMS-R werden neben Kurzzeitgedächtnis und verzögertem Gedächtnis die Aufmerksamkeit und Konzentrationsfähigkeit geprüft. Das Testverfahren wird in einer Sitzung durchgeführt und dauert 45 bis 60 Minuten. Die WMS-R besteht aus 13 Subtests, deren Ergebnis in einfacher oder doppelter Wichtung bewertet wird. Den Subtests lassen sich fünf Leistungsaspekte zuordnen (Tabelle 10, S. 63). So beinhaltet der Leistungsaspekt Verbales Gedächtnis die Subtests Logisches Gedächtnis I und Verbale Paarerkenntung I. Zum Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis gehören die Subtests Figurales Gedächtnis, Visuelle Paarerkenntung I und Visuelle Wiedergabe I. Die Bereiche Verbales Gedächtnis und Visuelles Gedächtnis lassen sich wiederum zum Leistungsaspekt Allgemeines Gedächtnis zusammenfassen. Der Bereich Aufmerksamkeit und Konzentration wird mit den Untertests Mentale Kontrolle, Zahlenspanne und Blockspanne geprüft. Zum Leistungsaspekt Verzögertes Gedächtnis zählen die Untertests Logisches Gedächtnis II, Visuelle Paarerkenntung II, Verbale Paarerkenntung II und Visuelle Wiedergabe II.

Zur Durchführung der WMS-R werden folgende Materialien benötigt: Das Handbuch WMS-R, Protokollbogen WMS-R (mit Zeichenblättern für Visuelle Wiedergabe I und II), Stimulusheft für Figurales Gedächtnis. Stimulusheft für Visuelle Paarerkenntung, Testhefte für Visuelle Paarerkenntung A und B, 4 Stimuluskarten für Visuelle Wiedergabe I, Blockspannenbrett, Bleistift mit Radiergummi für Visuelle Wiedergabe I und II und eine Uhr mit Sekundenzeiger.

2.4.1 Untertests der WMS-R

2.4.1.1 Information und Orientierung

Zur groben Einschätzung und Überprüfung des allgemeinen kognitiven Niveaus werden dem Probanden 14 Fragen gestellt, die der Einschätzung der persönlichen, zeitlichen und örtlichen Orientierung und des Allgemeinwissens dienen. Maximal sind 14 Punkte zu erzielen. Dieser Subtest dient nicht zur Einschätzung der Gedächtnisleistung, sondern lediglich zur Einschätzung der Durchführbarkeit des Tests. Wird nicht die volle Punktzahl von 14 erreicht, wird der Proband von der Studie ausgeschlossen. Es schließen sich zwei Fragen zu Defiziten bei Sehstärke und Hörvermögen an, um ein darin begründetes, verfälschtes Testergebnis zu

vermeiden. Bei Bedarf wird der Proband gebeten zum Beispiel Lesebrille und/ oder Hörgerät als Hilfsmittel zu verwenden. Diese zwei Fragen erbringen keine Punkte.

Tabelle 10: Leistungsaspekte und Subtests der WMS-R

Leistungsaspekt		Subtest (Wichtung)
Kognitives Kurzscreening		Information und Orientierung
Allgemeines Gedächtnis	Verbales Gedächtnis	Logisches Gedächtnis I (zweifach)
		Verbale Paarerkenung I (einfach)
	Visuelles Gedächtnis	Figurales Gedächtnis (einfach)
		Visuelle Paarerkenung I (einfach)
		Visuelle Wiedergabe I (einfach)
Aufmerksamkeit und Konzentration		Mentale Kontrolle (einfach)
		Zahlenspanne (zweifach)
		Blockspanne (zweifach)
Verzögertes Gedächtnis		Logisches Gedächtnis II (einfach)
		Visuelle Paarerkenung II (zweifach)
		Verbale Paarerkenung II (zweifach)
		Visuelle Wiedergabe II (einfach)

2.4.1.2 Mentale Kontrolle

Der Subtest Mentale Kontrolle beinhaltet drei Aufgabenstellungen. In ihnen wird die Testperson aufgefordert Zahlen- bzw. Buchstabenreihen in einer vorgegebenen Zeitspanne aufzusagen.

Je korrekt gelöster Aufgabe im Rahmen des vorgegebenen Zeitfensters werden 2 Punkte vergeben. Wird innerhalb der Zeitgrenze ein Fehler begangen, wird ein Punkt vergeben, bei mehr als einem Fehler erhält der Proband keine Punkte. Es können maximal 6 Punkte erzielt werden.

2.4.1.3 Figurales Gedächtnis

Dieser Untertest besteht aus vier Aufgaben, in denen der Proband ein vorher gezeigtes Muster unter anderen wiedererkennen soll. In Aufgabe 1 wird das Muster 5 Sekunden gezeigt und soll aus insgesamt 3 Mustern wiedererkannt werden. In den Aufgaben 2 bis 4 werden je 3 Muster 15 Sekunden lang gezeigt, die anschließend aus insgesamt 9 anderen Muster identifiziert werden sollen. Mit jedem korrekt identifizierten Muster wird ein Punkt erzielt, wobei die Reihenfolge bedeutungslos ist. Insgesamt können bei dieser Aufgabe maximal 10 Punkte erzielt werden.

2.4.1.4 Logisches Gedächtnis I (Textreproduktion I)

Dem Probanden wird eine Geschichte vorgelesen. Direkt im Anschluss daran wird er aufgefordert, diese Geschichte möglichst wortgetreu und genau wiederzugeben. Die Nacherzählung des Probanden wird wortwörtlich notiert, um gemäß präziser Vorgaben des Testmanuals eine valide Auswertung zu ermöglichen. Die Punktevergabe erfolgt nach der Anzahl der korrekten, im Anhang des Testmanuals nachzulesenden semantischen Einheiten. Je korrekter Auswertungseinheit gibt es einen Punkt. Es folgt eine zweite Geschichte mit identischer Prozedur. Es können insgesamt maximal 50 Punkte erreicht werden. Der Proband wird angehalten, sich die Geschichten gut einzuprägen, da er nach 30 Minuten erneut zu ihnen befragt würde.

2.4.1.5 Visuelle Paarerkenkung I

Voraussetzung zur korrekten Umsetzung dieses Untertests ist ein einwandfreies Farbensehen. Denn in diesem Teil wird das Vermögen getestet, sich Paare aus einer Figur und einer Farbe zu merken. Vor Beginn wird eine Beispielaufgabe durchgeführt, deren Ergebnis irrelevant für die Punktevergabe ist. Es werden jeweils für 3 Sekunden 6 Strichfiguren mit jeweils einer bestimmten Farbe gepaart gezeigt. Anschließend werden die Strichfiguren isoliert präsentiert und der Proband wird aufgefordert, innerhalb von 5 Sekunden auf einer Farbtafel auf die zugehörige Farbe zu deuten, mit der die Figur zuvor gepaart war. Es werden drei Durchgänge mit jeweils unterschiedlicher Reihenfolge der Strichfiguren vollzogen. Werden zuletzt alle Strichfiguren den korrekten Farben zugeordnet, ist der Untertest beendet. Ansonsten wird der Subtest fortgesetzt, bis alle Farben fehlerfrei benannt worden sind bzw. der sechste Durchgang vollendet ist. Treten Fehler auf oder antwortet der Proband nicht,

korrigiert bzw. vervollständigt der Untersucher das richtige Farb-Figuren-Paar. Punkte werden nur in den ersten drei Durchgängen vergeben, jeweils ein Punkt für eine richtige Farb-Figur-Zuordnung. Somit können maximal 18 Punkte erreicht werden. Zuletzt wird der Proband aufgefordert die Farb-Figur-Paare im Gedächtnis zu behalten, da er zu einem späteren Zeitpunkt erneut danach gefragt würde.

2.4.1.6 Verbale Paarererkennung I

Analog zum vorherigen Test, wird der Proband gebeten sich bestimmte Paare zu merken. Hier bestehen diese Paare aus zwei Wörtern, die zu Beginn mit einem Sprechtempo von etwa 3 Sekunden pro Paar vorgelesen werden. 4 Wortpaare sind semantisch hoch und 4 davon niedrig assoziiert. Anschließend wird vom Untersucher das erste Wort genannt und der Proband soll innerhalb von 5 Sekunden das zweite zugehörige Wort angeben. Wie im Untertest zuvor werden mindestens drei Durchgänge ausgeführt. Bei korrekten Antworten wird zum nächsten Untertest übergegangen. Sind Fehler aufgetreten, wird solange fortgefahren, bis alle Paare richtig benannt wurden oder der sechste Durchgang beendet wurde. Auch hier wird vom Untersucher korrigiert bzw. das richtige Wortpaar genannt. Pro korrektes Wortpaar erfolgt die Vergabe von einem Punkt, so dass maximal 24 Punkte erreicht werden können. Auch hier erhält der Proband die Information über eine erneute, spätere Abfrage der Wortpaare.

2.4.1.7 Visuelle Wiedergabe I

Im Rahmen des Subtests Visuelle Wiedergabe I werden dem Probanden jeweils 10 Sekunden lang 4 Stimuluskarten präsentiert, auf denen Figuren unterschiedlicher Komplexität abgebildet sind. Unmittelbar nach Zeigen einer Stimuluskarte, soll der Proband aus dem Gedächtnis die Figur auf ein leeres Blatt Papier zeichnen, die zuvor auf der Karte abgebildet war. Er wird gebeten, dies möglichst detailgetreu und präzise zu tun. Hierfür besteht kein Zeitlimit. Korrigieren durch Radieren ist erlaubt. Die Bewertung dieser Aufgabe erfolgt anhand im Testmanual befindlicher Kriterien mit maximal 41 Punkten. Auch hier wird der Proband aufgefordert, die Figuren für eine erneute Abfrage zu späterem Zeitpunkt zu memorieren.

2.4.1.8 Zahlenspanne (Verbale Merkspanne)

Der Subtest Zahlenspanne kann in zwei Aufgabenbereiche unterteilt werden. Diese sind Zahlenspanne vorwärts und Zahlenspanne rückwärts. Dem Probanden werden in beiden Bereichen Zahlenreihen wachsender Länge vorgelesen.

Bei Zahlenspanne vorwärts wird der Geprüfte gebeten, eine ihm vorgelesene Zahlenreihe in korrekter Reihenfolge unmittelbar wiederzugeben. Dies wird mit einer anderen Zahlenreihe gleicher Länge wiederholt. In den folgenden Durchgängen werden die Reihen um je eine Zahl länger, bis maximal 8 Zahlen. Je Durchgang gilt es, zwei Zahlenreihen gleicher Länge zu wiederholen. Können beide Zahlenreihen nicht korrekt wiedergegeben werden, wird abgebrochen und zu Zahlenreihe rückwärts übergegangen.

Bei Zahlenspanne rückwärts wird analog verfahren. Es sollen hier die Zahlenreihen allerdings in umgekehrter Reihenfolge wiederholt werden. Für jede fehlerfrei aufgesagte Zahlenreihe erhält der Geprüfte einen Punkt. Maximal sind 24 Punkte zu erreichen.

2.4.1.9 Blockspanne (Visuelle Merkspanne)

Auf einem Blockspannbrett sind Würfel in unregelmäßiger Anordnung befestigt. Diese werden vom Untersucher nacheinander in einer bestimmten Reihenfolge angetippt. Der Geprüfte wird gebeten im unmittelbaren Anschluss daran diese Reihenfolge exakt zu wiederholen. Auch in diesem Untertest finden sich zwei Aufgabentypen, nämlich Blockspanne vorwärts und Blockspanne rückwärts. In Blockspanne rückwärts soll der Proband die Würfel in umgekehrter Reihenfolge aufzeigen. Für den Bereich Blockspanne vorwärts sind 7, für Blockspanne rückwärts 6 Folgen vorgesehen, wobei mit jedem Schritt die Folge um einen Würfel länger wird. Für eine korrekt nachgezeigte Folge der zu merkenden Würfel gibt es einen Punkt. Insgesamt sind maximal 26 Punkte zu erreichen.

2.4.1.10 Logisches Gedächtnis II (Textreproduktion II)

Der Proband wird aufgefordert, möglichst detailgetreu die beiden Geschichten zu reproduzieren, die ihm zuvor im Subtest Logisches Gedächtnis I vorgelesen wurden. Sollten weniger als 30 Minuten zwischen dem erstmaligen Vorlesen und der erneuten, zweiten Wiedergabe liegen, muss eine Pause eingelegt werden. Sofern der Proband nicht fähig ist sich zu erinnern, dürfen definierte Hilfestellungen gegeben

werden. Die Auswertungskriterien finden sich wie in Logisches Gedächtnis I im Testmanual. Maximal können hier 50 Punkte erreicht werden.

2.4.1.11 Visuelle Paarerkenennung II

Die in Visuelle Paarerkenennung I präsentierten Strichfiguren werden erneut vorgeführt. Der Proband soll auf diejenigen Farben auf der Farbtafel deuten, mit der die Strichfiguren jeweils vorher gepaart waren. Für jede richtig zugeordnete Farbe erhält er einen Punkt, so dass maximal 6 Punkte vergeben werden.

2.4.1.12 Verbale Paarerkenennung II

Es wird jeweils das erste der Wörter der Wortpaare aus Verbale Paarerkenennung I genannt. Der Proband wird aufgefordert, die fehlenden zweiten Wörter zu wiederholen. Für jedes korrekt memorierte Wortpaar erhält er 1 Punkt, so dass maximal 8 Punkte erzielt werden können.

2.4.1.13 Visuelle Wiedergabe II

Der Getestete wird aufgefordert, aus dem Gedächtnis die 4 Figuren, die ihm zuvor in Visuelle Wiedergabe I demonstriert wurden, erneut und möglichst detailgenau aufzuzeichnen. Die Reihenfolge ist hierbei beliebig und Korrigieren durch Radieren erlaubt. Die Bewertung verläuft wie in Visuelle Wiedergabe I mit maximal 41 erreichbaren Punkten.

2.4.2 Auswertung der WMS-R

Die erreichten Rohwerte der Untertests wurden wie in Tabelle 10 beschrieben ein- oder zweifach gewertet und anschließend addiert (Abbildung 11, S. 68). Zur Auswertung wurden die im Testmanual (Härting et al., 2000) beschriebenen Mittelwerte und Standardabweichungen verwendet, die in einer Validierungsstichprobe von 210 Probanden im Alter zwischen 15 und 74 Jahren erhoben wurden. Dabei wurde die Gesamtheit der Probanden in 7 Altersgruppen von je 30 Personen unterteilt und für jede Altersgruppe Mittelwert und Standardabweichung ermittelt. Somit wurde die demographische Variable Alter in der Auswertung der WMS-R berücksichtigt. Innerhalb dieser 7 Gruppen bestand jeweils

dasselbe Geschlechter- sowie Bildungsverhältnis. Zwischen den Geschlechtern zeigte sich kein signifikanter Unterschied (Härting et al., 2000).

In der Validierungsstichprobe zeigte sich ein signifikanter Einfluss der Schulbildung auf das Testergebnis. Für die Berücksichtigung des Bildungsstandes der Probanden in der Testauswertung enthält das Testmanual lediglich eine gesonderte Normentabelle für Abiturienten, jedoch keine Gruppeneinteilung nach Bildungsgrad. Dies sollte bei Anwendung der Testbatterie berücksichtigt werden.

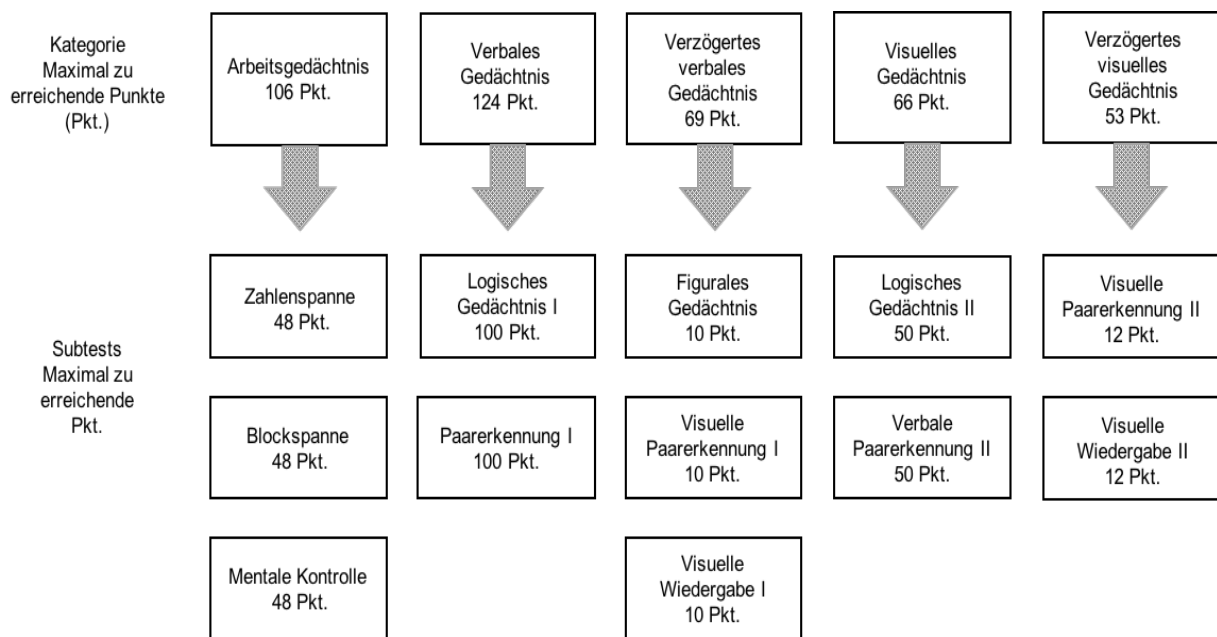


Abbildung 11: WMS-R: Kategorien, Leistungsaspekte und zu erreichende Punkte

2.4.3 Statistische Gütekriterien der WMS-R

2.4.3.1 Objektivität

Die Objektivität der WMS-R kann durch exakte und standardisierte Instruktionen und Beurteilungskriterien im Anhang des Manuals für die Durchführung des Testes als gegeben angesehen werden.

2.4.3.2 Validität

Durch eine Testung mit einerseits einer Gruppe von Patienten mit beginnender Demenz und andererseits einer Gruppe von Patienten mit diagnostizierter depressiver

Erkrankung konnte die Validität der WMS-R sichergestellt werden (Härting et al., 1999). In dieser Untersuchung fielen Ergebnisse von drei Standardabweichungen unter dem Mittelwert in der Gruppe der Patienten mit beginnender Demenz auf, während die depressiven Patienten ein Ergebnis von einer Standardabweichung unter dem Mittelwert der Normalverteilung erreichten.

2.5 Laborverfahren

Die labortechnische Verfahrensweise folgte den standardisierten Richtlinien in der Sektion für Molekulare und Klinische Neurobiologie. Hierbei wurde allen Studienteilnehmern nach Durchführung der WMS-R- Testung venöses Blut mit einer Monovette entnommen, der EDTA zugesetzt war, um eine Gerinnung zu verhindern. Die Blutproben wurden anonymisiert, mit einem alphanummerischen Code versehen und bis zur Bestimmung der Genotypen der zu untersuchenden SNPs bei -80°C gelagert.

2.5.2 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion wurde mittels des QIAamp DNA Blood Maxi Kit der Firma Qiagen aus 5-10 ml venösem Blut vorgenommen (QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook 2005; Tabelle 11).

Tabelle 11: Materialien für die DNA-Extraktion gemäß Anleitung des QIAamp DNA Blood Maxi Kit

Material	Volumen	Hersteller
QIAamp Maxi Spin Columns		Qiagen, Hilden
Zentrifugensammelröhrchen		Sarstedt, Nümbrecht
Qiagen® Protease	500 µl	Qiagen, Hilden
Lysepuffer	12 ml	Qiagen, Hilden
Ethanol 96-100%	10 ml	Carl Roth, Karlsruhe
Guanidin-HCL-Waschpuffer	5 ml	Qiagen, Hilden
Ethanol-Waschpuffer	5 ml	Qiagen, Hilden
Tris-Puffer	1,5 ml	Qiagen, Hilden

2.5.1.1 Blutprobenvorbereitung

Die auf -80° C gekühlten Blutproben wurden auf Raumtemperatur aufgetaut, um verwendet werden zu können.

2.5.1.2 Zellyse

Zur Lyse der Leukozyten und Freisetzung der DNA wurde den venösen Vollblutproben 500 µl Proteinase K zugesetzt. Die Durchmischung der Proben und somit eine erleichterte Verdauung der Proteine durch die Proteinase K erfolgte in Zentrifugenröhrchen nach Beimischung von 12 ml eines Guanidin-HCL-haltigen Lysepuffers unter zweiminütiger Verwendung eines Vortexers.

Schließlich erfolgte eine 30minütige Inkubation in einem Wasserbad von 70° C, während der die Proben gleichzeitig geschüttelt wurden.

2.5.1.3 Adsorption der DNA an Silikagel-Membran

Durch Zugabe von 10 ml 96-100% Ethanol in die Probe und zweiminütiger Durchmischung auf dem Vortexer wurde die Fällung der DNA ermöglicht. Nach Übertragung der DNA-Lösung auf die Silika-Säule erfolgte eine dreiminütige Zentrifugation mit 3000 Umdrehungen pro Minute. Durch die vorherrschenden Elektrolyt- und pH-Bedingungen wurden RNA und Nukleinsäure-bindende Proteine nicht an die Membran gebunden; lediglich DNA befand sich auf der Membran.

2.5.1.4 Reinigung der DNA durch Waschen von Verunreinigungen von der Säule

Es wurden zur Reinigung der DNA nacheinander zwei Waschpuffer angewandt. Zunächst wurden 5 ml des Guanidin-HCL haltigen Puffers auf die Membran mit dem DNA-Material gegeben und für eine Minute mit 5000 Umdrehungen zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Zugabe von 5 ml Ethanol haltigen Waschpuffers, um die verbliebenen Guanidiniumsalze auszuwaschen und eine fünfzehnminütige Zentrifugation mit 5000 Umdrehungen pro Minute.

2.5.1.5 Elution der DNA von der Silikamembran

Die Elution der DNA erfolgte nach Zugabe von 1,5 ml Tris-Puffer (pH>9,0). Hierbei wurde die Silikamembran nach einer fünfminütigen Inkubation bei Raumtemperatur für weitere fünf Minuten bei 5000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Durch den basischen Tris-Puffer konnte die DNA von der Silikamembran eluiert werden.

2.5.2 DNA-Quantifizierung

Zur Messung der DNA-Konzentration wurde nach der PicoGreen-Methode verfahren, bei der mit einem Fluoreszenzfarbstoff gearbeitet wird, der ultraspezifisch doppelsträngige DNA markiert. Die Stärke der Fluoreszenz verhält sich hierbei direkt proportional zur Menge der DNA und konnte mittels eines Fluoreszenzreaders (Victor 1420 Multilabelcounter) quantifiziert werden (Tabelle 12).

Um DNAs gleicher Konzentrationen für die Genotypisierung herzustellen, wurden die Proben anhand eines Vergleichs mit einer Eichgeraden, die mittels Proben bekannter DNA-Konzentrationen hergestellt wurde, auf eine Menge von 50 ng/µl eingestellt.

Tabelle 12: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte zur DNA-Quantifizierung

	Materialien	Hersteller
Verbrauchsmaterialien	96 well Platte; schwarz, mit flachem Boden	Greiner, Frickenhäusen
	96 well Platte; für PCR	ABGene, Portsmouth, USA
	selbstklebende Aluminiumfolie	Eppendorf, Hamburg
	50 ml konische PP-Röhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
Reagenzien	PicoGreen dsDNA quantitation reagent	Molecular Probes, Eugene, USA
	Clontech Human Genomic DNA 100ng/µl	Clontech, Mountain View, USA
Geräte	Janus Automated Workstation	Perkin Elmer, Waltham, USA
	Vortexer Reax	Heidolph, Schwabach
	Optiplex GX620 Pentium 4HT	Dell, Round Rock, USA
	Victor 1420 Multilabelcounter	Perkin Elmer, Waltham, USA

2.5.2.1 Herstellung der Standard DNA-Verdünnungsreihe

Es wurde DNA bekannter Konzentration (Clontech Human Genomic DNA 100 ng/µl) zur Herstellung einer 1:1 Verdünnungsreihe mit zweifach destilliertem H₂O im Verhältnis 1:1 verwendet. Die Mischung erfolgte jeweils durch mehrfaches Aufziehen in der Pipettenspitze. Die unverdünnte Lösung stellte sowohl den ersten Messpunkt

als auch die Ausgangssubstanz für die folgende Verdünnungsreihe dar (Tabelle 13). Der letzte Messpunkt enthielt als Nullwert der Standardreihe nur das Lösungsmittel (H_2O).

Tabelle 13: Konzentrationen der DNA in den einzelnen Reihen/Säulen

Reihe/ Säule	A1/A2	B1/2	C1/2	D1/2	E1/2	F1/2	G1/2	H1/2
Konzentration (ng/ μl)	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,5625	0

2.5.2.3. Vorverdünnung der Stammlösung

Die Vorverdünnung der DNA Stammlösung aus den Vollblutproben wurde durchgeführt, um die DNA-Konzentrationen denen der Eichkurve anzugleichen. Hierzu wurde ein Roboter (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer) verwendet, der auf eine 96 well Platte (ABGene) je Probe 5 μl DNA Stammlösung und 45 μl bidestilliertes H_2O pipettierte, so dass ein Verdünnungsverhältnis von 1:10 entstand.

2.5.2.4 Herstellung des PicoGreen Gemischs und Vorbereitung der Messplatte

Unter lichtundurchlässigen Bedingungen wurde das gefrorene PicoGreen Reagenz für ca. 60 Minuten bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschließend wurde es in einem Verhältnis von 1:156 mit destilliertem und autoklavierten H_2O verdünnt. Daraus wurden je 145 μl vom Janus-Pipettierroboter zu 5 μl der verdünnten DNA-Lösungen gegeben, so dass sich eine Endverdünnung von 1:200 ergab.

2.5.2.5 Vorbereitung der Messplatte

Die folgenden Pipettierschritte wurden mithilfe des Roboters Janus Automated Workstation (Perkin Elmer) ausgeführt.

Auf eine schwarze 96 Well Platte mit flachem Boden (Greiner) wurden 50 μl bidestilliertes H_2O pipettiert. In die Vertiefungen der Spalten 1 und 2 der Messplatte wurden in Duplikaten je 5 μl der Standardlösung pipettiert. In die folgenden Wells wurden je 5 μl der zu messenden DNA in Duplikaten pipettiert. Anschließend wurden

pro well je 145 µl PicoGreen-Gemisch pipettiert. Von einem Gripper wurde die vorbereitete Messplatte zügig in das Fluoreszenzmessgerät befördert.

2.5.2.6 Messung der DNA-Konzentration

Die DNA-Konzentration wurde im Victor 3 1420 Multilabelcounter gemessen. Zur Bestimmung der Intensität der Fluoreszenz wurde eine Anregungswelle von 485 nm benutzt und die Emission bei 535 nm gemessen. Die gemessenen Ergebnisse wurden an einen Computer gesendet, der aus den Doppelbestimmungen der Proben den Mittelwert bestimmte.

2.5.2.7 Einstellung der DNA-Konzentration auf 50 ng/µl

Mittels der bestimmten Konzentrationswerte erfolgte automatisch die Ermittlung des notwendigen Verhältnisses von bidestilliertem H₂O zu den DNA-Volumina der Ausgangslösung für das Erreichen einer Arbeitslösungskonzentration von 50 ng/µl. Die Einstellung einer Konzentration von 500 µl Arbeitslösung führte der Roboter automatisch durch.

2.5.3 Genotypisierung

2.5.3.1 Die SNPs

Die Genotypisierung wurde an sieben SNPs des PNOC-Gens durchgeführt. Die Assays für die SNPs rs904053, rs351784, rs2722900, rs2722897, rs2614100, rs2280928 und rs1563945 wurden unter Verwendung der Spectro Designer Software (Sequenom) konzipiert. Die Primer wurden so gewählt und konstruiert, dass sie möglichst nahe an den zu amplifizierenden SNPs lagen (Tabelle 14, S. 74).

2.5.3.2 iPLEX Verfahren

Zur Genotypisierung wurde das iPLEX-Verfahren nach standardisierten Bedingungen gemäß dem iPLEX-Protokoll der Firma Sequenom (Oeth et al., 2005) angewandt. Es setzt sich aus einer konventionellen PCR, einer speziellen PCR und dem MALDI-TOF-Verfahren zusammen (Oeth et al. 2005; Tabelle 15, S. 74).

Tabelle 14: Lokalisation der SNPs des PNOC-Gens auf Chromosom 8 und Primersequenzen

SNP-ID	Chromosom 8 Position	1. PCR-Primer	2. PCR-Primer	Länge des Amplifikats (bp)
rs2722897	28229116	ACGTTGGATGT CAGGATGCAA AGTGACCC	ACGTTGGATGAAACCTT ACACTGCAGGTCG	112
rs1563945	28230805	ACGTTGGATGA GCCCCGACCGCG ACTAACT	ACGTTGGATGCCACAC TGGACAAAGGAGAG	117
rs2722900	28238768	ACGTTGGATGG TGTGTGAAGGA TGAGTTGG	ACGTTGGATGGTGCCT GGCTTCTTAATGTC	106
rs2614100	28242365	ACGTTGGATGA ATTGTCAAGGC CATAGGCG	ACGTTGGATGAGGAAC CCAGACACACTAAC	101
rs2280928	28251682	ACGTTGGATGC AGCTGGACCAC GATGTTTC	ACGTTGGATGGAGACC CAATCAGAACCAAG	109
rs351784	28253666	ACGTTGGATGC CAAAACAAAAAT GGCACGC	ACGTTGGATGATTTGGT CCAATGGACCTAG	120
rs904053	28258855	ACGTTGGATGG TAGGTAACGCT TCCAATG	ACGTTGGATGAACAGC ACTCTCTCATAGGG	100

Tabelle 15: iPLEX-Verfahren

Schritte des iPLEX-Verfahrens	
Konventionelle PCR	Vervielfältigung einer ausgewählten DNA-Sequenz
Spezielle PCR (Extensionsreaktion)	Modifizierte PCR zur Erzeugung massenspezifischer Produkte
MALDI-TOF	Massenspektrometrie

2.5.3.2.1 Konventionelle PCR

Die konventionelle Polymerasekettenreaktion (PCR; engl. Polymerase chain reaction) wurde 1983 von Mullis und Kollegen konzipiert (Mullis et al. 1990) und dient dazu, spezifische Bereiche des Genoms in vitro zu vervielfältigen. Für eine PCR benötigte Komponenten umfassen die zu amplifizierende (Original-) DNA, zwei Primer, hitzestabile Polymerase, Desoxynukleotidtriphosphate, Magnesiumionen und Pufferlösung (Tabelle 16, S. 75).

Im ersten Arbeitsschritt wird die doppelsträngige DNA denaturiert, indem sie für 15 Minuten auf eine Temperatur von 95° C erhitzt wird. Wasserstoffbrückenbindungen werden hierdurch aufgebrochen, so dass die vormals doppelsträngige DNA in Form zweier Einzelstränge vorliegt (Denaturierung).

Der Ansatz wird nun auf 56° C abgekühlt und für 30 s auf dieser Temperatur belassen, sodass die spezifischen forward- und reverse-Primer an die DNA binden (Primerhybridisierung, -annealing).

Es folgt für 60 s eine Temperaturerhöhung auf 72° C, dem Temperaturoptimum der Taq-Polymerase, wobei vom 3'-Ende des Primers ein komplementärer DNA-Strang aus freien Desoxynukleotidtriphosphaten (dNTPs) synthetisiert wird (Elongation).

Diese Wärmebehandlungen werden in einem Thermocycler (GeneAmp, PCR System 9700, Applied Biosystems) durchgeführt und in weiteren 44 Zyklen wiederholt um eine ausreichende Ausbeute an DNA für die nachfolgende Extensionsreaktion zu erhalten. In den folgenden Zyklen wurde dabei die Denaturierungszeit auf 30 s verkürzt. Die letzte, finale Elongation wurde für 3 Minuten bei 72° C durchgeführt. Nach Beendigung der PCR wurden die Proben auf 4° C herunter gekühlt, bevor sie bis zur Weiterverarbeitung bei -20° C zwischengelagert wurden.

Tabelle 16: PCR-Reagenzien

Reagenz	Volumen in einer Reaktion	Hersteller
H ₂ O	1,850 µl	
10 x PCR-Puffer	0,625 µl	Qiagen, Hilden
MgCl ₂ 25mM	0,325 µl	Qiagen, Hilden
dNTP Mix, 25mM	0,100 µl	Abgene, Portsmouth, USA
PCR-Primer-Mix, je 500nM	1,000 µl	Metabion, München
Hotstar Taq-Polymerase 5U/µl	0,100 µl	Qiagen, Hilden

2.5.3.2.2 Dephosphorylierung

Durch Zugabe von Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) erfolgte eine Dephosphorylierung restlicher freier Nukleotide, die somit keine Substrate mehr für die Polymerase darstellten und als Störfaktoren in der späteren Massenspektrometrie ausgeschlossen werden konnten. Der SAP-Mix beinhaltete SAP-Puffer, SAP-Enzym und H₂O und wurde nach jeder PCR in einer Menge von 2 µl pro PCR-Produkt hinzugegeben (Tabelle 17, S. 76). Dabei erfolgte eine Inkubation bei 37° C für 20 Minuten und anschließend zur Inaktivierung des SAP-Enzyms eine Erhitzung auf 85°C.

Tabelle 17: Reagenzien zur Dephosphorylierung

Reagenz	Volumen	Hersteller
H ₂ O	1,530 µl	Sequenom, San Diego, USA
10 x SAP Puffer	0,170 µl	Sequenom, San Diego, USA
SAP-Enzym	0,300 µl	Sequenom, San Diego, USA

2.5.3.2.3 Extensionsreaktion

Die Extensions- oder iPLEX-Reaktion ist eine abgewandelte PCR, für die massenspezifische Extensionsprimer für jedes Allel eines SNPs entworfen wurden. Dabei wurden diese Primer mit dem Programm MassARRAY Assay Design 3.0 (Sequenom) so konzipiert, dass sie sich unmittelbar neben den zu untersuchenden SNPs anlagerten. In einer definierten Mischung wurden Didesoxyribonukleosidtriphosphate benutzt, nach deren Einbau in einen DNA-Strang die Elongation abbricht. Dadurch entstehen Extensionprodukte unterschiedlicher Länge und Masse. Zur besseren Unterscheidung ihrer Massen im MALDI-TOF tragen die Didesoxynukleotide zudem spezielle funktionelle Gruppen (Tabelle 18).

Tabelle 18: Sequenzen der Extensionsprimer der SNPs des PNOC-Gens

SNP-ID	Extensionprimer
rs2722897	GCAGCTACCATTTTGGACTCTT
rs1563945	GCCCTCCCGGAGCTCCAC
rs2722900	ccctCACTTGCTGTTCCCTCT
rs2614100	CAGACACACTAACAAGCCTCT
rs2280928	AACCAAGAACGTGGGA
rs351784	ggTCATCTTCTTTCTCCATTT
rs904053	GTTATTTATAATAGGGAACCCA

In jedes Well der Platte wurden mit einem Pipettierroboter (Microlab 4000, Hamilton) zu den PCR-Produkten je 2 µl des iPLEX-Reaktionscocktails pipettiert und anschließend in einen Thermocycler transferiert (Tabelle 19).

Tabelle 19: Zusammensetzung des iPLEX-Reaktionscocktails

Reagenz	Volumen für eine Reaktion	Hersteller
H ₂ O, autoklaviert	0,755 µl	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Buffer Plus	0,200 µl	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Termination Mix	0,200 µl	Sequenom, San Diego, USA
Primer-Mix	0,804 µl	Metabion, Martinsried
iPLEX-Enzym	0,041 µl	Sequenom, San Diego, USA

Dort wurden die Proben zur DNA-Denaturierung für 30 s auf eine Temperatur von 94° C erhitzt. Es folgte eine Abkühlung für 30 s bei 50° C, worunter sich die Extensionprimer direkt vor den zu untersuchenden SNP anlagerten. Bei 80° C erfolgte für 5 s die Primerextension, bei der ein Didesoxynukleotid mithilfe der Polymerase an den Primer binden konnte. Die Komponenten Abkühlung auf 50°C und Elongation bei 80°C wurde in 5 Zyklen durchgeführt, bevor eine nächste Denaturierung bei 94° C für 5 s durchgeführt wurde. Dieser Ablauf wurde 40 Mal wiederholt bis eine finale Extensionsreaktion bei 72° C über 3 Minuten erfolgte.

Um Natrium- und Kaliumionen, die die folgende Massenspektrometrie beeinträchtigen würden, aus der Probe zu eliminieren, wurde ein Ionenaustauschharz (SpectroClean, Sequenom) angewandt. Anschließend erfolgte per MassARRAY Nanodispenser (Sequenom) die Übertragung von je 15 nl der Proben auf Siliziumchips (384-element SpectroCHIP bioarray).

2.5.3.3 MALDI-TOF Massenspektrometrie

An die oben beschriebenen Reaktionen schloss sich eine Massenspektrometrie mittels des MassARRAY MALDI-TOF Verfahrens an. Anhand dessen war die Identifikation der komplementären Allele der SNP möglich. Die MALDI-TOF-Massenspektrometrie umfasst im Wesentlichen eine Ionenquelle, einen Analysator und einen Detektor und diente zur Massenanalyse der Extensionsprodukte. Es handelt sich hierbei um ein massenspektrometrisches Verfahren, das eine Matrix gestützte Laserdesorption und Ionisation mit einem Flugzeitanalysator verbindet.

Zunächst wurden die Proben (Primerextensionprodukte) mit einem Überschuss an Matrix, vorrangig aus kleinen aromatischen Säuren bestehend, versetzt und vermischt. Dies geschah auf einer 384 Matrix auf Siliziumchips mit 2-Hydroxypikolinsäure, um ein Auskristallisieren der Proben- DNA zu verhindern. Im Massenspektrometer wurden die Chips in einem Hochvakuum (ca. 10^8 - 10^6 mbar) für drei Nanosekunden einem Laserpuls ausgesetzt (N2-Laser: $\lambda=337\text{nm}$). Durch die Energie des Laserpulses, die von der Matrix absorbiert wird, ionisierten die Proben zu einfach geladenen Molekülionen. Durch eine anschließend angelegte Spannung wurden die Ionen beschleunigt und in einem feldreien Areal in die Richtung des Detektors gelenkt. In Abhängigkeit des Verhältnisses ihrer Massen und Ladungen (m/z-Wert) erreichen die Ionen verschiedene Geschwindigkeiten. Je höher ihre Masse, desto geringer ist ihre Geschwindigkeit. Die Flugzeit wurde ermittelt, indem

die Zeit zwischen Startsignal des Laserimpulses und Aufprall der Ionen am Detektor gemessen wurde. Hierbei gilt, dass die Wurzel der Flugzeit sich proportional zum m/z -Wert verhält.

Mit der Software MassARRAY Workstation Package Version 3.3 wurden die gemessenen Massenspektren digitalisiert und analysiert. Da der Software die Massen der Extensionprimer und die der verschiedenen Didesoxynukleotide bekannt waren, konnten die Genotypen auf diese Weise identifiziert werden.

2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe von IBM SPSS Statistics 19, PLINK (PLINK v1.07; Purcell et al. 2007), R v 2.13.0 (R Development Core Team, 2011) und Haploview (Haploview 4.2; Barrett et al., 2005) durchgeführt.

Die Genotypen der Patienten und Kontrollprobanden wurden auf Einhaltung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts mittels des Fisher's Exact Test untersucht.

Mit $p < 0,01$ signifikant abweichende SNPs wurden aus der Berechnung ausgeschlossen. Die Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden bezüglich der Häufigkeiten der Allele und Genotypen wurden mit dem Fisher's Exact Test bestimmt. Für die Genotypverteilung wurden der Chi-Quadrat Test im Genotyp-, im dominanten und rezessiven Modell verwendet (PLINK v1.07).

Zur Untersuchung des genetischen Einflusses auf die Phänotypen (kognitive Leistung gemessen mittels der WMS-R) wurde eine multiple lineare Regression im additiven Modell durchgeführt. Das Geschlecht, das Alter und der Bildungsgrad wurden als Kovariablen einbezogen. Für den Genotyp wurden die adjustierten Mittelwerte berechnet.

Zur Berechnung der Kopplungsungleichgewichte und der LD-Blockstruktur diente Haploview (Haploview 4.2; Barrett et al., 2005). Die Haplotypen und Frequenzen wurden nach der Methode von Gabriel et al. (Gabriel et al., 2002) in der Gesamtstichprobe geschätzt und anschließend auf Assoziationen mit kognitiven Funktionen untersucht (Schaid et al., 2002). Gesundheitsstatus, Alter, Geschlecht und Schulbildung wurden erneut als Kovariablen berücksichtigt. Die p -Werte wurden mit einem Test mit 10000 Permutationen bestimmt (p -sim). SNPs mit einer minimalen Allelfrequenz $< 1\%$ und Probanden mit weniger als 50% valider Genotypen wurden aus der Analyse ausgeschlossen. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ und ein Trend auf $p < 0,1$ festgelegt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Im Rahmen der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurden die sieben SNPs des PNOC-Gens rs2722897, rs2722900, rs2614100, rs2280928, rs351784 und rs904053 auf eine Assoziation mit der Schizophrenie hin untersucht. Zu diesem Zweck wurden diese SNPs genotypisiert und im Hinblick auf Ihre Genotypen- und Allelfrequenzen statistisch ausgewertet. Das Studienkollektiv umfasste insgesamt 510 Schizophreniepatienten und 1321 Kontrollprobanden.

3.1.1 Analyse des Polymorphismus' rs2722897

3.1.1.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen für die Gruppe gesunder Kontrollprobanden ($F = 0,030$; $p = 0,294$), für die Gruppe von Schizophreniepatienten ($F = -0,026$; $p = 0,806$) und die Gesamtstichprobe ($F = 0,013$; $p = 0,570$) lagen im Hardy-Weinberg-Equilibrium.

Die Verteilung der Genotypen des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722897 ist in Tabelle 20 dargestellt.

Tabelle 20: Genotypverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722897

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	13 (1,0)	202 (15,4)	1096 (83,6)	1311 (100)
Patienten	4 (0,8)	95 (18,7)	410 (80,6)	509 (100)
Gesamt	17 (0,9)	297 (16,3)	1506 (82,7)	1820 (100)

Bezüglich der Genotypverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($p = 0,2392$; Tabelle 20).

Tabelle 21: Häufigkeiten aller G-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-G-Allelträgern (A/A) des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722897

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G + G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	13 (1,0)	1298 (99,0)	1311 (100)
Patienten	4 (0,8)	505 (99,2)	509 (100)
Gesamt	17 (0,9)	1803 (99,1)	1820 (100)

Bei dem Vergleich von G-Allelträgern und Nicht-G-Allelträgern (A/A) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,7924$; Tabelle 21, S. 79).

Tabelle 22: Häufigkeiten aller A-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-A-Allelträgern (G/G) des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722897

	Genotyp A/A + A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	215 (16,4)	1096 (83,6)	1311 (100)
Patienten	99 (19,4)	410 (80,6)	509 (100)
Gesamt	314 (17,3)	1506 (82,7)	1820 (100)

Bei dem Vergleich von A-Allelträgern und Nicht-A-Allelträgern (G/G) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,1285$; Tabelle 22).

3.1.1.2 Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung bei Schizophreniepatienten und Kontrollen ergab die in Tabelle 23 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 23: Darstellung der Allelverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722897

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	228 (8,7)	2394 (91,3)	2622 (100)
Patienten	103 (10,1)	915 (89,9)	1018 (100)
Gesamt	331 (9,1)	3309 (90,9)	3640 (100)

Bezüglich der Allelverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientenverteilung feststellbar ($p=0,1782$; Tabelle 23).

3.1.2 Analyse des Polymorphismus' rs1563945

3.1.2.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen für die Gruppe gesunder Kontrollprobanden ($F=-0,038$; $p=0,208$), für die Gruppe von Schizophreniepatienten ($F=0,004$; $p=0,864$) und die Gesamtstichprobe ($F=-0,026$; $p=0,340$) lagen im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Die Verteilung der Genotypen des Einzelbasenpolymorphismus' rs1563945 ist in Tabelle 24, S. 81 dargestellt.

Tabelle 24: Genotypverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs1563945

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	944 (73,2)	326 (25,3)	20 (1,6)	1290 (100)
Patienten	357 (71,7)	129 (25,9)	12 (2,4)	498 (100)
Gesamt	1301 (72,8)	455 (25,4)	32 (1,8)	1788 (100)

Bezüglich der Genotypverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($p=0,4108$; Tabelle 24).

Tabelle 25: Häufigkeiten aller A-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-A-Allelträgern (C/C) des Einzelbasenpolymorphismus' rs1563945

	Genotyp A/A + A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1270 (98,4)	20 (1,6)	1290 (100)
Patienten	486 (97,6)	12 (2,4)	498 (100)
Gesamt	1756 (98,2)	32 (1,8)	1788 (100)

Bei dem Vergleich von A-Allelträgern und Nicht-A-Allelträgern (C/C) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,2339$; Tabelle 25).

Tabelle 26: Häufigkeiten aller C-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-C-Allelträgern (A/A) des Einzelbasenpolymorphismus' rs1563945

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/C + C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	944 (73,2)	346 (26,8)	1290 (100)
Patienten	357 (71,7)	141 (28,3)	498 (100)
Gesamt	1301 (72,8)	487 (27,2)	1788 (100)

Bei dem Vergleich von C-Allelträgern und Nicht-C-Allelträgern (A/A) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,5535$; Tabelle 26).

3.1.2.2 Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung bei Schizophreniepatienten und Kontrollen ergab die in Tabelle 27, S. 82 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 27: Darstellung der Allelverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs1563945

	A-Allel n (%)	C-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	2214 (85,8)	366 (14,2)	2580 (100)
Patienten	843 (84,6)	153 (15,4)	996 (100)
Gesamt	3057 (85,5)	519 (14,5)	3576 (100)

Bezüglich der Allelverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientenverteilung feststellbar ($p = 0,3685$; Tabelle 27).

3.1.3 Analyse des Polymorphismus' rs2722900

3.1.3.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen für die Gruppe gesunder Kontrollprobanden ($F = -0,032$; $p = 0,267$) und für die Gruppe von Schizophreniepatienten ($F = -0,087$; $p = 0,058$) lagen im Hardy-Weinberg-Equilibrium, während die Genotypverteilung für die Gesamtstichprobe ($F = -0,047$; $p = 0,047$) bei einem Signifikanzniveau von 5% nicht innerhalb des Hardy-Weinberg-Equilibriums verteilt war. Die Verteilung der Genotypen des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722900 ist in Tabelle 28 dargestellt.

Tabelle 28: Genotypverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722900

	Genotyp C/ C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	348 (26,7)	671 (51,5)	284 (21,8)	1303 (100)
Patienten	120 (24,5)	266 (54,3)	104 (21,2)	490 (100)
Gesamt	468 (26,1)	937 (52,3)	388 (21,6)	1793 (100)

Bezüglich der Genotypverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($p = 0,5388$; Tabelle 28).

Tabelle 29: Häufigkeiten aller C-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-C-Allelträgern (T/T) des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722900

	Genotyp C/C + C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1019 (78,2)	284 (21,8)	1303 (100)
Patienten	386 (78,8)	104 (21,2)	490 (100)
Gesamt	1405 (78,4)	388 (21,6)	1793 (100)

Bei dem Vergleich von C-Allelträgern und Nicht-C-Allelträgern (T/T) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,847$; Tabelle 29, S. 82).

Tabelle 30: Häufigkeiten aller T-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-T-Allelträgern (C/C) des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722900

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T + T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	348 (26,7)	955 (73,3)	1303 (100)
Patienten	120 (24,5)	370 (75,5)	490 (100)
Gesamt	468 (26,1)	1325 (73,9)	1793 (100)

Bei dem Vergleich von T-Allelträgern und Nicht-T-Allelträgern (C/C) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,3656$; Tabelle 30).

3.1.3.2 Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung bei Schizophreniepatienten und Kontrollen ergab die in Tabelle 31 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 31: Darstellung der Allelverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs2722900

	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1367 (52,5)	1239 (47,5)	2606 (100)
Patienten	506 (51,6)	474 (48,4)	980 (100)
Gesamt	1873 (52,2)	1713 (47,8)	3586 (100)

Bezüglich der Allelverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientenverteilung feststellbar ($p=0,6799$; Tabelle 31).

3.1.4 Analyse des Polymorphismus' rs2614100

3.1.4.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen für die Gruppe gesunder Kontrollprobanden ($F=-0,030$; $p=0,291$), für die Gruppe von Schizophreniepatienten ($F=-0,059$; $p=0,209$) und die Gesamtstichprobe ($F=-0,038$; $p=0,119$) lagen im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Die Verteilung der Genotypen des Einzelbasenpolymorphismus' rs2614100 ist in Tabelle 32, S. 84 dargestellt.

Tabelle 32: Genotypverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs2614100

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	342 (26,3)	668 (51,4)	289 (22,2)	1299 (100)
Patienten	118 (23,8)	262 (52,9)	115 (23,2)	495 (100)
Gesamt	460 (25,6)	930 (51,8)	404 (22,5)	1794 (100)

Bezüglich der Genotypverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($p=0,5604$; Tabelle 32).

Tabelle 33: Häufigkeiten aller A-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-A-Allelträgern (G/G) des Einzelbasenpolymorphismus' rs2614100

	Genotyp A/A + A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1010 (77,8)	289 (22,2)	1299 (100)
Patienten	380 (76,8)	115 (23,2)	495 (100)
Gesamt	1390 (77,5)	404 (22,5)	1794 (100)

Bei dem Vergleich von A-Allelträgern und Nicht-A-Allelträgern (G/G) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,6584$; Tabelle 33).

Tabelle 34: Häufigkeiten aller G-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-G-Allelträgern (A/A) des Einzelbasenpolymorphismus' rs2614100

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G + G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	342 (26,3)	957 (73,7)	1299 (100)
Patienten	118 (23,8)	377 (76,2)	495 (100)
Gesamt	460 (25,6)	1334 (74,4)	1794 (100)

Bei dem Vergleich von G-Allelträgern und Nicht-G-Allelträgern (A/A) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,3039$; Tabelle 34).

3.1.4.2 Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung bei Schizophreniepatienten und Kontrollen ergab die in Tabelle 35, S. 85 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 35: Darstellung der Allelverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs 2614100

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1352 (52,0)	1246 (48,0)	2598 (100)
Patienten	498 (50,3)	492 (49,7)	990 (100)
Gesamt	1850 (51,6)	1738 (48,4)	3588 (100)

Bezüglich der Allelverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientenverteilung feststellbar ($p=0,3698$; Tabelle 35).

3.1.5 Analyse des Polymorphismus' rs2280928

3.1.5.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen für die Gruppe gesunder Kontrollprobanden ($F=0,030$; $p=0,273$), für die Gruppe Schizophreniepatienten ($F=0,056$; $p=0,262$) und die Gesamtstichprobe ($F=0,006$; $p=0,770$) lagen im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Die Verteilung der Genotypen des Einzelbasenpolymorphismus' rs2280928 ist in Tabelle 36 dargestellt.

Tabelle 36: Genotypverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs2280928

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	110 (8,4)	512 (39,0)	691 (52,6)	1313 (100)
Patienten	32 (6,3)	212 (41,9)	262 (51,8)	506 (100)
Gesamt	142 (7,8)	724 (39,8)	953 (52,4)	1819 (100)

Bezüglich der Genotypverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($p=0,2513$; Tabelle 36).

Tabelle 37: Häufigkeiten aller G-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-G-Allelträgern (A/A) des Einzelbasenpolymorphismus' rs2280928

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G + G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	110 (8,4)	1203 (91,6)	1313 (100)
Patienten	32 (6,3)	474 (93,7)	506 (100)
Gesamt	142 (7,8)	1677 (92,2)	1819 (100)

Bei dem Vergleich von G-Allelträgern und Nicht-G-Allelträgern (A/A) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,1717$; Tabelle 37, S. 85).

Tabelle 38: Häufigkeiten aller A-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-A-Allelträgern (G/G) des Einzelbasenpolymorphismus' rs2280928

	Genotyp A/A + A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	622 (47,4)	691 (52,6)	1313 (100)
Patienten	244 (48,2)	262 (51,8)	506 (100)
Gesamt	866 (47,6)	953 (52,4)	1819 (100)

Bei dem Vergleich von A-Allelträgern und Nicht-A-Allelträgern (G/G) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,7535$; Tabelle 38).

3.1.5.2 Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung bei Schizophreniepatienten und Kontrollen ergab die in Tabelle 39 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 39: Darstellung der Allelverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs2280928

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	732 (27,9)	1894 (72,1)	2626 (100)
Patienten	276 (27,3)	736 (72,7)	1012 (100)
Gesamt	1008 (27,7)	2630 (72,3)	3638 (100)

Bezüglich der Allelverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientenverteilung feststellbar ($p=0,7409$; Tabelle 39).

3.1.6 Analyse des Polymorphismus' rs351784

3.1.6.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen für die Gruppe gesunder Kontrollprobanden ($F=0,048$; $p=0,092$), für die Gruppe von Schizophreniepatienten ($F=0,010$; $p=1,000$) und die Gesamtstichprobe ($F=0,031$; $p=0,195$) lagen im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Die Verteilung der Genotypen des Einzelbasenpolymorphismus' rs35178 ist in Tabelle 40, S. 87 dargestellt.

Tabelle 40: Genotypverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs351784

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	26 (2,1)	260 (20,8)	966 (77,2)	1252 (100)
Patienten	8 (1,6)	116 (22,9)	383 (75,5)	507 (100)
Gesamt	34 (1,9)	376 (21,4)	1349 (76,7)	1759 (100)

Bezüglich der Genotypverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($p = 0,5274$; Tabelle 40).

Tabelle 41: Häufigkeiten aller G-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-G-Allelträgern (C/C) des Einzelbasenpolymorphismus' rs351784

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/G + G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	26 (2,1)	1226 (97,9)	1252 (100)
Patienten	8 (1,6)	499 (98,4)	507 (100)
Gesamt	34 (1,9)	1725 (98,1)	1759 (100)

Bei dem Vergleich von G-Allelträgern und Nicht-G-Allelträgern (C/C) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p = 0,5703$; Tabelle 41).

Tabelle 42: Häufigkeiten aller C-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-C-Allelträgern (G/G) des Einzelbasenpolymorphismus' rs351784

	Genotyp C/C + C/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	286 (22,8)	966 (77,2)	1252 (100)
Patienten	124 (24,5)	383 (75,5)	507 (100)
Gesamt	410 (23,3)	1349 (76,7)	1759 (100)

Bei dem Vergleich von C-Allelträgern und Nicht-C-Allelträgern (G/G) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p = 0,4935$; Tabelle 42).

3.1.6.2 Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung bei Schizophreniepatienten und Kontrollen ergab die in Tabelle 43, S. 88 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 43: Darstellung der Allelverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs351784

	C-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	312 (12,5)	2192 (87,5)	2504 (100)
Patienten	132 (13,0)	882 (87,0)	1014 (100)
Gesamt	444 (12,6)	3074 (87,4)	3518 (100)

Bezüglich der Allelverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientenverteilung feststellbar ($p=0,6541$; Tabelle 43).

3.1.7 Analyse des Polymorphismus' rs904053

3.1.7.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen für die Gruppe gesunder Kontrollprobanden ($F=0,011$; $p=0,703$), für die Gruppe der Schizophreniepatienten ($F=0,041$; $p=0,449$) und die Gesamtstichprobe ($F=0,003$; $p=0,948$) lagen im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Die Verteilung der Genotypen des Einzelbasenpolymorphismus' rs904053 ist in Tabelle 44 dargestellt.

Tabelle 44: Genotypverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs904053

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	763 (58,2)	470 (35,9)	77 (5,9)	1310 (100)
Patienten	292 (58,4)	185 (37,0)	23 (4,6)	500 (100)
Gesamt	1055 (58,3)	655 (36,2)	100 (5,5)	1810 (100)

Bezüglich der Genotypverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($p=0,5616$; Tabelle 44).

Tabelle 45: Häufigkeiten aller A-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-A-Allelträgern (G/G) des Einzelbasenpolymorphismus' rs904053

	Genotyp A/A + A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1233 (94,1)	77 (5,9)	1310 (100)
Patienten	477 (95,4)	23 (4,6)	500 (100)
Gesamt	1710 (94,5)	100 (5,5)	1810 (100)

Bei dem Vergleich von A-Allelträgern und Nicht-A-Allelträgern (G/G) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,3571$; Tabelle 45, S. 88).

Tabelle 46: Häufigkeiten aller G-Allelträger im Vergleich mit den Nicht-G-Allelträgern (A/A) des Einzelbasenpolymorphismus' rs904053

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G + G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	763 (58,2)	547 (41,8)	1310 (100)
Patienten	292 (58,4)	208 (41,6)	500 (100)
Gesamt	1055 (58,3)	755 (41,7)	1810 (100)

Bei dem Vergleich von A-Allelträgern und Nicht-A-Allelträgern (G/G) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,9575$; Tabelle 46).

3.1.7.2 Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung bei Schizophreniepatienten und Kontrollen ergab die in Tabelle 47 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 47: Darstellung der Allelverteilung des Einzelbasenpolymorphismus' rs904053

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1996 (76,2)	624 (23,8)	2620 (100)
Patienten	769 (76,9)	231 (23,1)	1000 (100)
Gesamt	2765 (76,4)	855 (23,6)	3620 (100)

Bezüglich der Allelverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientenverteilung feststellbar ($p=0,6619$; Tabelle 47).

3.2 Endophänotypen- Studie

Zur Untersuchung einer möglichen Assoziation der Einzelnukleotidpolymorphismen rs2722897, rs1563945, rs2722900, rs2614100, rs2280928, rs351784 und rs904053 mit kognitiven Fähigkeiten wurde in einem Studienkollektiv von 524 Teilnehmern die deutsche Version der revidierten Fassung des Wechsler Gedächtnis Tests (WMS-R) durchgeführt. Nach Genotypisierung der Einzelnukleotidpolymorphismen aller Studienteilnehmer wurden Haplotypen, Genotypen- und Allelfrequenzen im Hinblick auf die Leistung in der WMS-R miteinander verglichen. Genotypen und Allele wurden als unabhängige Variablen und die Kriterien Geschlecht, Alter, Schulbildung und Gesundheitszustand als Kovariablen einbezogen. Es wurden dabei die Ergebnisse der fünf Leistungsaspekte Verbales, Visuelles, Allgemeines und Verzögertes Gedächtnis, sowie die Aufmerksamkeit und die 12 Untertests Mentale Kontrolle, Figurales Gedächtnis, Logisches Gedächtnis I und II, Visuelle Paarerkenung I und II, Verbale Paarerkenung I und II, Visuelle Wiedergabe I, Zahlenspanne und Blockspanne betrachtet.

3.2.1 Analyse des Polymorphismus' rs2722897

3.2.1.1 Ergebnisse der Genotypen in den WMS-R Leistungsaspekten

Die Assoziation der Genotypverteilung des SNP rs2722897 mit den fünf Leistungsaspekten der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 48).

Tabelle 48: Assoziation der Resultate der WMS-R Leistungsaspekte mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2722897

WMS-R Leistungsaspekt	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	Standard- Abweichung (SD)
	G/G n= 431	A/G n= 82	A/A n= 7				
Verbales Gedächtnis	77,940	76,547	75,154	-1,393	-0,916	0,360	1,521
Visuelles Gedächtnis	54,209	53,620	53,032	-0,589	-0,736	0,462	0,800
Allgemeines Gedächtnis	132,148	130,167	128,186	-1,981	-1,011	0,313	1,959
Aufmerksamkeit/ Konzentration	67,596	67,533	67,470	-0,063	-0,058	0,954	1,095
Verzögertes Gedächtnis	87,562	87,422	87,282	-0,140	-0,100	0,920	1,400

3.2.1.2 Ergebnisse der Genotypen in den WMS-R Untertests

Die Assoziation der Genotypverteilung des SNP rs2722897 mit den 12 Untertests der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 49).

Tabelle 49: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2722897

WMS-R Untertest	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	G/G n= 431	A/G n= 82	A/A n= 7				
1. Mentale Kontrolle	5,211	5,363	5,516	0,153	1,481	0,139	0,103
2. Figurales Gedächtnis	7,199	7,280	7,361	0,081	0,510	0,610	0,159
3. Logisches Gedächtnis I	28,657	28,030	27,042	-0,628	-0,894	0,372	0,702
4. Visuelle Paarerkenung I	13,457	13,435	13,414	-0,022	-0,059	0,953	0,362
5. Verbale Paarerkenung I	20,650	20,470	20,291	-0,180	-0,629	0,530	0,286
6. Visuelle Wiedergabe I	33,588	32,918	32,248	-0,670	-1,291	0,198	0,519
7. Zahlenspanne	14,805	14,476	14,147	-0,329	-0,973	0,331	0,338
8. Blockspanne	16,404	16,616	16,829	0,213	0,703	0,483	0,303
9. Logisches Gedächtnis II	31,591	31,592	31,594	0,001	0,001	0,999	0,791
10. Visuelle Paarerkenung II	5,410	5,498	5,586	0,088	0,788	0,431	0,112
11. Verbale Paarerkenung II	7,486	7,444	7,402	-0,042	-0,515	0,607	0,081

3.2.2 Analyse des Polymorphismus' rs1563945

3.2.2.1 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs1563945 in den WMS-R Leistungsaspekten

Bei der Assoziation der Genotypverteilung des SNP rs1563945 mit den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis, Allgemeines Gedächtnis, Aufmerksamkeit/Konzentration und Verzögertes Gedächtnis der WMS- R zeigten sich weder signifikante Werte noch ein Trend. Für den Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis ($F= 1,954$; $p=0,051$) ließ sich ein Trend feststellen. Der Genotyp A/A schnitt gegenüber den Genotypen A/C und C/C schlechter ab. Am besten schnitt der Genotyp C/C ab (Tabelle 50; Abbildung 12, S. 92).

Tabelle 50: Assoziation der Resultate der WMS-R Leistungsaspekte mit den Genotypen des Polymorphismus' rs1563945

WMS-R Leistungsaspekt	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	A/A n= 363	A/C n= 129	C/C n= 14				
Verbales Gedächtnis	78,038	77,425	76,812	-0,613	-0,488	0,626	1,257
Visuelles Gedächtnis	53,713	55,001	56,290	1,289	1,954	0,051	0,660
Allgemeines Gedächtnis	131,751	132,426	133,102	0,675	0,415	0,678	1,627
Aufmerksamkeit/ Konzentration	67,370	68,318	69,265	0,948	1,051	0,294	0,902
Verzögertes Gedächtnis	87,450	87,987	88,524	0,537	0,464	0,643	1,157

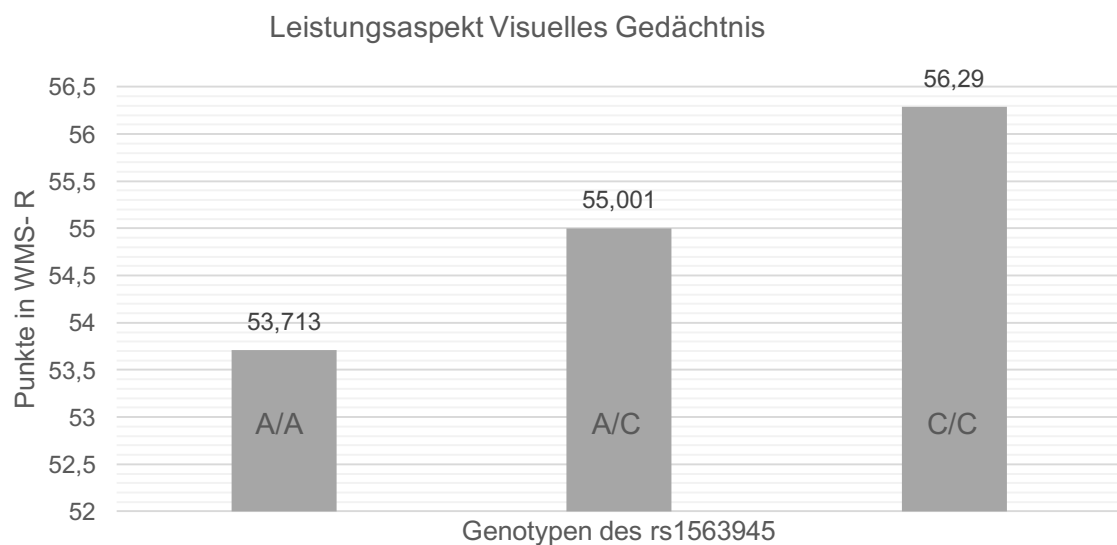


Abbildung 12: WMS-R- Punktezahlen im Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis im Vergleich zu den Genotypen des rs1563945

3.2.2.2 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs1563945 in den WMS-R Untertests

Von allen 12 Untertests der WMS-R zeigten zehn weder signifikante Werte noch einen Trend bei der Assoziation der Genotypen von rs1563945 mit den WMS-R Resultaten. Bei den Untertests Visuelle Wiedergabe I ($F=1,955$; $p=0,051$) und Blockspanne ($F=1,650$; $p=0,100$) zeigte sich ein Trend. In ihnen schnitten

Studienteilnehmer mit dem Genotyp A/A schlechter ab als diejenigen mit den Genotypen A/C und C/C. In beiden Untertests schnitten Studienteilnehmer mit dem Genotyp C/C am besten ab (Tabelle 51; Abbildungen 13 & 14, S. 93-94).

Tabelle 51: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs1563945

WMS-R Untertest	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	A/A n= 363	A/C n= 129	C/C n= 14				
1. Mentale Kontrolle	5,230	5,266	5,302	0,036	0,418	0,677	0,086
2. Figurales Gedächtnis	7,173	7,317	7,460	0,143	1,097	0,273	0,131
3. Logisches Gedächtnis I	28,721	28,388	28,055	-0,333	-0,575	0,565	0,579
4. Visuelle Paarerkenung I	13,412	13,698	13,984	0,286	0,962	0,337	0,298
5. Verbale Paarerkenung I	20,613	20,667	20,721	0,054	0,229	0,819	0,236
6. Visuelle Wiedergabe I	33,164	34,005	34,845	0,840	1,955	0,051	0,430
7. Zahlenspanne	14,774	14,812	14,850	0,038	0,136	0,892	0,278
8. Blockspanne	16,312	16,723	17,133	0,411	1,650	0,100	0,249
9. Logisches Gedächtnis II	31,907	31,073	30,239	-0,834	-1,274	0,203	0,654
10. Visuelle Paarerkenung II	5,410	5,498	5,586	0,127	1,367	0,172	0,093
11. Verbale Paarerkenung II	7,486	7,444	7,402	0,088	1,322	0,187	0,067
12. Visuelle Wiedergabe II	30,262	29,972	29,682	0,891	1,506	0,133	0,592

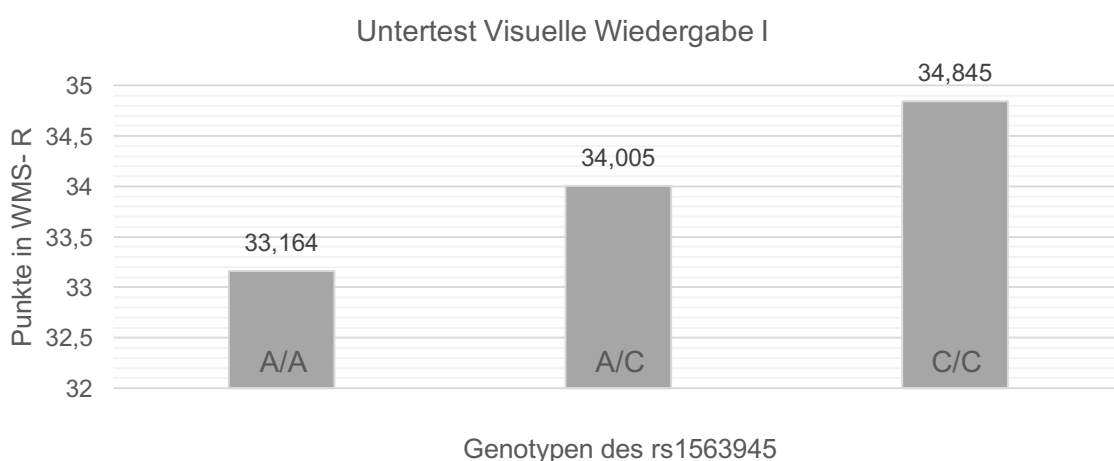


Abbildung 13: WMS-R- Punktezahlen im Untertest Visuelle Wiedergabe I im Vergleich zu den Genotypen des Polymorphismus' rs1563945

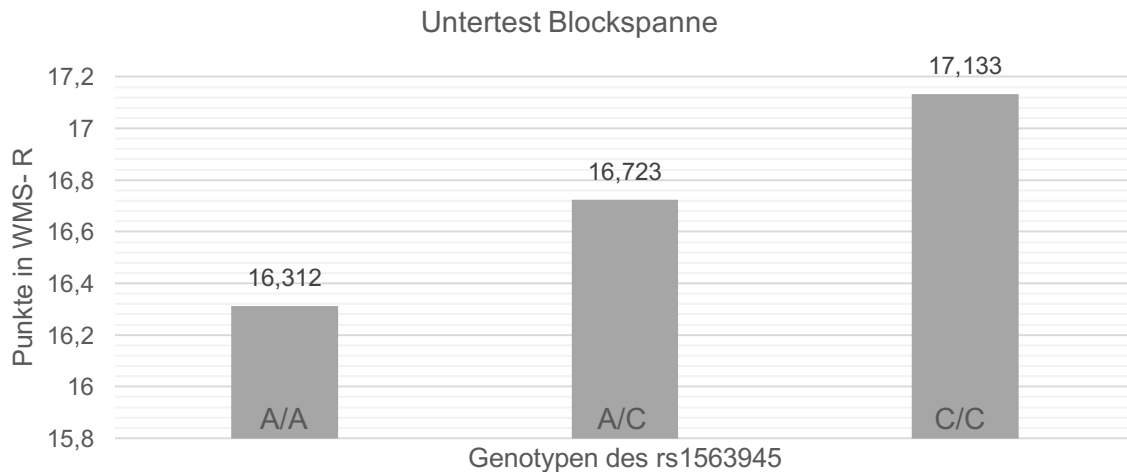


Abbildung 14: WMS-R- Punktezahlen im Untertest Blockspanne im Vergleich zu den Genotypen des rs1563945

3.2.3 Analyse des Polymorphismus' rs2722900

3.2.3.1 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs2722900 in den WMS-R Leistungsaspekten

Die Assoziation der Genotypverteilung des SNP rs2722900 mit den fünf Leistungsaspekten der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 52).

Tabelle 52: Assoziation der Resultate der WMS-R Leistungsaspekte mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2722900

WMS-R Leistungsaspekt	Genotyp			Regressions-koeffizient	F	p	SD
	C/C n= 129	C/T n= 272	T/T n= 112				
Verbales Gedächtnis	77,173	77,978	78,783	0,805	0,846	0,398	0,951
Visuelles Gedächtnis	54,605	54,207	53,809	-0,398	-0,803	0,422	0,496
Allgemeines Gedächtnis	131,778	132,185	132,592	0,407	0,333	0,740	1,224
Aufmerksamkeit/ Konzentration	67,516	67,744	67,973	0,228	0,337	0,737	0,678
Verzögertes Gedächtnis	87,971	87,816	87,660	-0,156	-0,180	0,857	0,864

3.2.3.2 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs2722900 in den WMS-R Untertests

Die Assoziation der Genotypverteilung von rs2722900 mit den 12 Untertests der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 53).

Tabelle 53: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2722900

WMS-R Untertest	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	C/C n= 129	C/T n= 272	T/T n= 112				
1. Mentale Kontrolle	5,270	5,241	5,213	-0,028	-0,441	0,659	0,065
2. Figurales Gedächtnis	7,361	7,224	7,087	-0,137	-1,383	0,167	0,099
3. Logisches Gedächtnis I	28,207	28,676	29,144	0,468	1,068	0,286	0,438
4. Visuelle Paarerkenung I	13,631	13,493	13,356	-0,137	-0,610	0,542	0,225
5. Verbale Paarerkenung I	20,759	20,645	20,530	-0,114	-0,641	0,522	0,178
6. Visuelle Wiedergabe I	33,645	33,521	33,398	-0,123	-0,382	0,703	0,323
7. Zahlenspanne	14,601	14,794	14,986	0,193	0,914	0,361	0,211
8. Blockspanne	16,537	16,472	16,408	-0,064	-0,340	0,734	0,189
9. Logisches Gedächtnis II	31,595	31,737	31,880	0,143	0,290	0,772	0,492
10. Visuelle Paarerkenung II	5,412	5,442	5,473	0,030	0,443	0,658	0,068
11. Verbale Paarerkenung II	7,512	7,489	7,467	-0,022	-0,442	0,659	0,050
12. Visuelle Wiedergabe II	30,600	30,286	29,973	-0,313	-0,702	0,483	0,446

3.2.4 Analyse des Polymorphismus' rs2614100

3.2.4.1 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs2614100 in den WMS-R Leistungsaspekten

Die Assoziation der Genotypverteilung des SNP rs2614100 mit den fünf Leistungsaspekten der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 54, S. 96).

Tabelle 54: Assoziation der Resultate der WMS-R Leistungsaspekte mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2614100

WMS-R Leistungsaspekt	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	A/A n= 125	A/G n= 263	G/G n= 121				
Verbales Gedächtnis	77,363	77,896	78,429	0,533	0,568	0,570	0,939
Visuelles Gedächtnis	54,717	54,129	53,541	-0,588	-1,193	0,234	0,493
Allgemeines Gedächtnis	132,080	132,025	131,970	-0,055	-0,045	0,964	1,212
Aufmerksamkeit/ Konzentration	67,822	67,712	67,603	-0,109	-0,162	0,871	0,673
Verzögertes Gedächtnis	88,219	87,632	87,045	-0,587	-0,685	0,494	0,857

3.2.4.2 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs2614100 in den WMS-R Untertests

Von allen 12 Untertests der WMS-R zeigten elf weder signifikante Werte noch einen Trend bei der Assoziation der Genotypen von rs2614100 mit den WMS-R Resultaten. Bei dem Untertest Figurales Gedächtnis ($p=0,066$) zeigte sich ein Trend. In ihm schnitten Studienteilnehmer mit dem Genotyp G/G schlechter ab als diejenigen mit den Genotypen A/G und A/A. Studienteilnehmer mit dem Genotyp A/A schnitten am besten ab (Tabelle 55; Abbildung 15, S. 96-97).

Tabelle 55: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2614100

WMS-R Untertest	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	A/A n= 125	A/G n= 263	G/G n= 121				
1. Mentale Kontrolle	5,299	5,254	5,209	-0,045	-0,707	0,480	0,064
2. Figurales Gedächtnis	7,406	7,229	7,051	-0,178	-1,845	0,066	0,096
3. Logisches Gedächtnis I	28,274	28,643	29,011	0,369	0,852	0,395	0,432
4. Visuelle Paarerkenung I	13,691	13,500	13,310	-0,190	-0,856	0,393	0,223
5. Verbale Paarerkenung I	20,815	20,628	20,442	-0,187	-1,064	0,288	0,176
6. Visuelle Wiedergabe I	33,653	33,431	33,210	-0,221	-0,690	0,491	0,321
7. Zahlenspanne	14,701	14,786	14,871	0,085	0,408	0,684	0,209

Tabelle 55: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2614100

8. Blockspanne	16,575	16,458	16,340	-0,118	-0,634	0,527	0,186
9. Logisches Gedächtnis II	31,649	31,660	31,670	0,010	0,021	0,983	0,486
10. Visuelle Paarerkenung II	5,445	5,437	5,429	-0,008	-0,113	0,910	0,069
11. Verbale Paarerkenung II	7,511	7,476	7,442	-0,035	-0,689	0,491	0,050
12. Visuelle Wiedergabe II	30,733	30,218	29,704	-0,515	-1,170	0,243	0,440

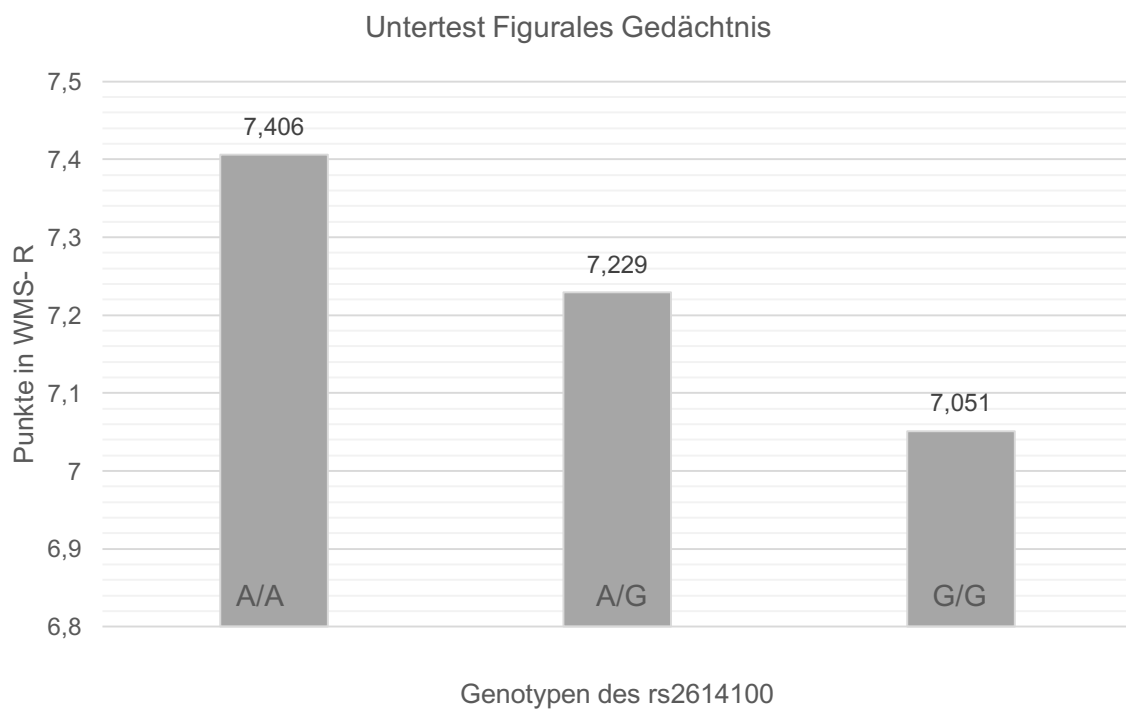


Abbildung 15: WMS-R- Punktezahlen im Untertest Figurales Gedächtnis im Vergleich zu den Genotypen des rs2614100

3.2.5 Analyse des Polymorphismus' rs2280928

3.2.5.1 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs2280928 in den WMS-R Leistungsaspekten

Die Assoziation der Genotypverteilung des SNP rs2280928 mit den fünf Leistungsaspekten der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 56, S. 98).

Tabelle 56: Assoziation der Resultate der WMS-R Leistungsaspekte mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2280928

WMS-R Leistungsaspekt	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	G/G n= 281	A/G n= 193	A/A n= 45				
Verbales Gedächtnis	78,425	77,267	76,109	-1,158	-1,169	0,243	0,991
Visuelles Gedächtnis	54,111	54,140	54,179	0,029	0,056	0,955	0,520
Allgemeines Gedächtnis	132,537	131,408	130,278	-1,129	-0,883	0,378	1,279
Aufmerksamkeit/ Konzentration	67,880	67,344	66,808	-0,536	-0,752	0,452	0,712
Verzögertes Gedächtnis	87,718	87,468	87,218	-0,250	-0,275	0,784	0,910

3.2.5.2 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs2280928 in den WMS-R Untertests

Die Assoziation der Genotypverteilung von rs2280928 mit den 12 Untertests der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 57, S. 98-99).

Tabelle 57: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2280928

WMS-R Untertest	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	G/G n= 281	A/G n= 193	A/A n= 45				
1. Mentale Kontrolle	5,206	5,263	5,320	0,057	0,849	0,396	0,067
2. Figurales Gedächtnis	7,176	7,264	7,353	0,089	0,860	0,390	0,103
3. Logisches Gedächtnis I	28,927	28,324	27,721	-0,603	-1,320	0,188	0,457
4. Visuelle Paarererkennung I	13,485	13,462	13,439	-0,023	-0,098	0,922	0,234
5. Verbale Paarererkennung I	20,600	20,625	20,650	0,025	0,135	0,893	0,186
6. Visuelle Wiedergabe I	33,471	33,453	33,436	-0,018	-0,052	0,959	0,338
7. Zahlenspanne	14,851	14,650	14,448	-0,201	-0,914	0,361	0,220
8. Blockspanne	16,496	16,408	16,320	-0,088	-0,447	0,655	0,197
9. Logisches Gedächtnis II	31,579	31,707	31,834	0,128	0,249	0,804	0,513

Tabelle 57: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs2280928

10. Visuelle Paarerkennung II	5,488	5,375	5,262	-0,113	-1,555	0,121	0,073
11. Verbale Paarerkennung II	7,509	7,450	7,392	-0,058	-1,102	0,271	0,053
12. Visuelle Wiedergabe II	30,190	30,203	30,216	0,013	0,028	0,977	0,469

3.2.6 Analyse des Polymorphismus' rs351784

3.2.6.1 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs351784 in den WMS-R Leistungsaspekten

Die Assoziation der Genotypverteilung des SNP rs351784 mit den fünf Leistungsaspekten der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 58).

Tabelle 58: Assoziation der Resultate der WMS-R Leistungsaspekte mit den Genotypen des Polymorphismus' rs351784

WMS-R Leistungsaspekt	Genotyp			Regressionskoeffizient	F	p	SD
	G/G n= 389	C/G n= 100	C/C n= 9				
Verbales Gedächtnis	77,515	78,241	78,967	0,726	0,514	0,607	1,412
Visuelles Gedächtnis	54,082	53,616	53,150	-0,466	-0,627	0,531	0,744
Allgemeines Gedächtnis	131,597	131,857	132,117	0,260	0,143	0,887	1,823
Aufmerksamkeit/ Konzentration	67,401	67,395	67,389	-0,006	-0,006	0,995	1,015
Verzögertes Gedächtnis	87,120	88,174	89,227	1,054	0,809	0,419	1,302

3.2.6.2 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs351784 in den WMS-R Untertests

Die Assoziation der Genotypverteilung von rs351784 mit den 12 Untertests der WMS-R zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend (Tabelle 59, S. 100).

Tabelle 59: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs351784

WMS-R Untertest	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	G/G n= 389	C/G n= 100	C/C n= 9				
1. Mentale Kontrolle	5,248	5,212	5,176	-0,036	-0,378	0,706	0,095
2. Figurales Gedächtnis	7,175	7,268	7,361	0,093	0,632	0,527	0,147
3. Logisches Gedächtnis I	28,493	28,747	29,000	0,254	0,389	0,698	0,652
4. Visuelle Paarerkenung I	13,448	13,382	13,316	-0,066	-0,198	0,843	0,335
5. Verbale Paarerkenung I	20,545	20,765	20,986	0,220	0,831	0,407	0,265
6. Visuelle Wiedergabe I	33,496	32,983	32,471	-0,513	-1,054	0,293	0,486
7. Zahlenspanne	14,682	14,853	15,025	0,172	0,551	0,582	0,311
8. Blockspanne	16,411	16,247	16,083	-0,164	-0,583	0,560	0,281
9. Logisches Gedächtnis II	31,448	31,994	32,540	0,546	0,747	0,455	0,731
10. Visuelle Paarerkenung II	5,399	5,474	5,549	0,075	0,719	0,472	0,105
11. Verbale Paarerkenung II	7,443	7,559	7,675	0,116	1,528	0,127	0,076
12. Visuelle Wiedergabe II	30,073	30,146	30,220	0,073	0,109	0,913	0,673

3.2.7 Analyse des Polymorphismus' rs904053

3.2.7.1 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs904053 in den WMS-R Leistungsaspekten

Bei der Assoziation der Genotypverteilung des SNP rs904053 mit den Leistungsaspekten Visuelles Gedächtnis, Aufmerksamkeit/ Konzentration und Verzögertes Gedächtnis der WMS-R zeigten sich weder signifikante Werte noch ein Trend. Für den Leistungsaspekt Verbales Gedächtnis ($p=0,048$) ließ sich eine Signifikanz feststellen. Der Genotyp G/G schnitt gegenüber den Genotypen A/A und A/G schlechter ab. Am besten schnitt der Genotyp A/A ab (Abbildung 16, S. 101). Ebenfalls zeigte der Leistungsaspekt Allgemeines Gedächtnis signifikante Werte ($p=0,043$). Der Genotyp G/G schnitt gegenüber den Genotypen A/A und A/G schlechter ab. Am besten schnitt der Genotyp A/A ab (Tabelle 60; Abbildung 17, S. 101).

Tabelle 60: Assoziation der Resultate der WMS-R Leistungsaspekte mit den Genotypen des Polymorphismus' rs904053

WMS-R Leistungsaspekt	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	A/A n= 310	A/G n= 183	G/G n= 24				
Verbales Gedächtnis	79,052	76,866	74,680	-2,186	-1,983	0,048	1,102
Visuelles Gedächtnis	54,497	53,801	53,105	-0,696	-1,203	0,230	0,579
Allgemeines Gedächtnis	133,549	130,667	127,785	-2,882	-2,031	0,043	1,419
Aufmerksamkeit/ Konzentration	68,136	67,130	66,123	-1,007	-1,271	0,205	0,792
Verzögertes Gedächtnis	88,373	87,183	85,993	-1,190	-1,185	0,236	1,004

Leistungsaspekt Verbales Gedächtnis

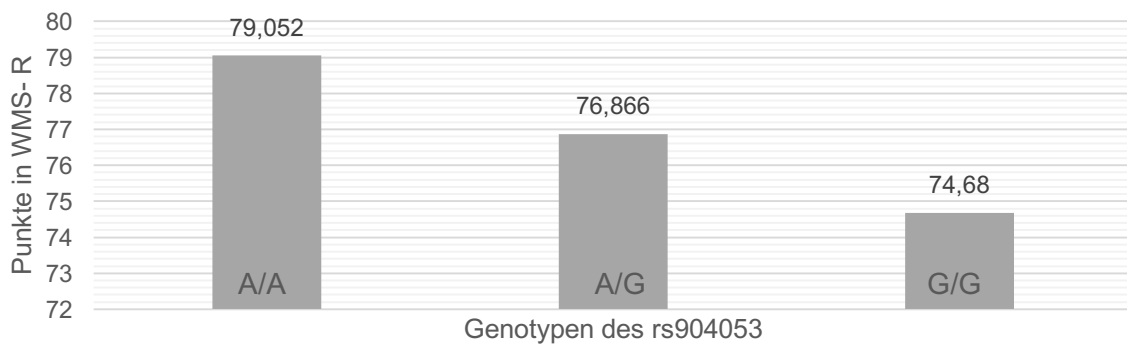


Abbildung 16: WMS-R- Punktezahlen im Leistungsaspekt Verbales Gedächtnis im Vergleich zu den Genotypen des rs904053

Leistungsaspekt Allgemeines Gedächtnis

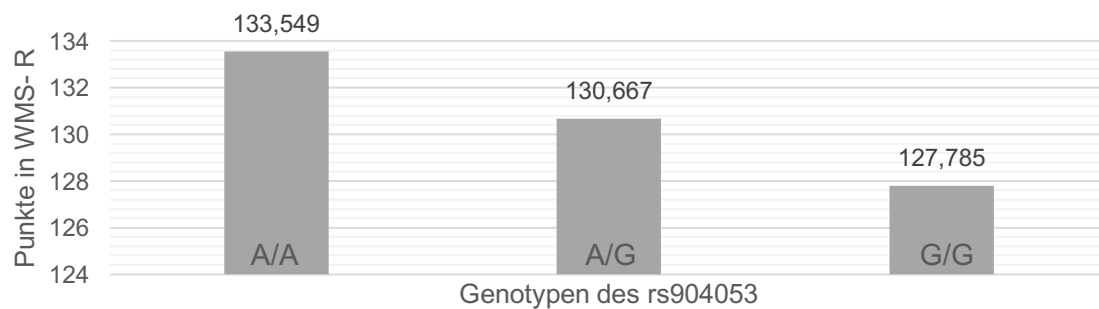


Abbildung 17: WMS-R- Punktezahlen im Leistungsaspekt Allgemeines Gedächtnis im Vergleich zu den Genotypen des rs904053

3.2.7.2 Ergebnisse der Genotypen des Polymorphismus' rs904053 in den WMS-R Untertests

Von allen 12 Untertests der WMS-R zeigten neun weder signifikante Werte noch einen Trend bei der Assoziation der Genotypen des SNP rs904053 mit den WMS-R Resultaten. Bei dem Untertest Logisches Gedächtnis I ($p=0,039$) zeigte sich eine Signifikanz. In ihm schnitten Studienteilnehmer mit dem Genotyp G/G schlechter ab als diejenigen mit den Genotypen A/G und A/A. Studienteilnehmer mit dem Genotyp A/A schnitten am besten ab. Ebenfalls signifikante Werte fanden sich bei dem Untertest Visuelle Paarerkenung II ($p= 0,026$). Studienteilnehmer mit dem Genotyp G/G schnitten schlechter ab als diejenigen mit den Genotypen A/G und A/A. Am besten schnitten Studienteilnehmer mit dem Genotyp A/A ab.

Ein Trend zeigte sich im Untertest Zahlenspanne ($p=0,082$). Ebenfalls schnitten hier Studienteilnehmer mit dem Genotyp G/G am schlechtesten ab, während diejenigen mit dem Genotyp A/A die beste Leistung erzielten (Tabelle 61; Abbildungen 18-20, S. 102-103).

Tabelle 61: Assoziation der WMS-R Untertests mit den Genotypen des Polymorphismus' rs904053

WMS-R Untertest	Genotyp			Regressions- koeffizient	F	p	SD
	A/A n= 310	A/G n= 183	G/G n= 24				
1. Mentale Kontrolle	5,225	5,225	5,285	0,030	0,395	0,693	0,076
2. Figurales Gedächtnis	7,237	7,227	7,217	-0,010	-0,086	0,931	0,116
3. Logisches Gedächtnis I	29,192	28,140	27,088	-1,052	-2,066	0,039	0,509
4. Visuelle Paarerkenung I	13,584	13,439	13,294	-0,145	-0,555	0,579	0,261
5. Verbale Paarerkenung I	20,697	20,585	20,473	-0,112	-0,543	0,588	0,206
6. Visuelle Wiedergabe I	33,694	33,181	32,668	-0,513	-1,362	0,174	0,377
7. Zahlenspanne	14,953	14,524	14,095	-0,429	-1,744	0,082	0,246
8. Blockspanne	16,512	16,433	16,354	-0,079	-0,359	0,720	0,220
9. Logisches Gedächtnis II	31,933	31,584	31,235	-0,349	-0,614	0,539	0,567
10. Visuelle Paarerkenung II	5,519	5,341	5,163	-0,178	-2,236	0,026	0,080
11. Verbale Paarerkenung II	7,506	7,445	7,445	-0,030	-0,520	0,603	0,059
12. Visuelle Wiedergabe II	30,427	30,078	29,729	-0,349	-0,669	0,504	0,522

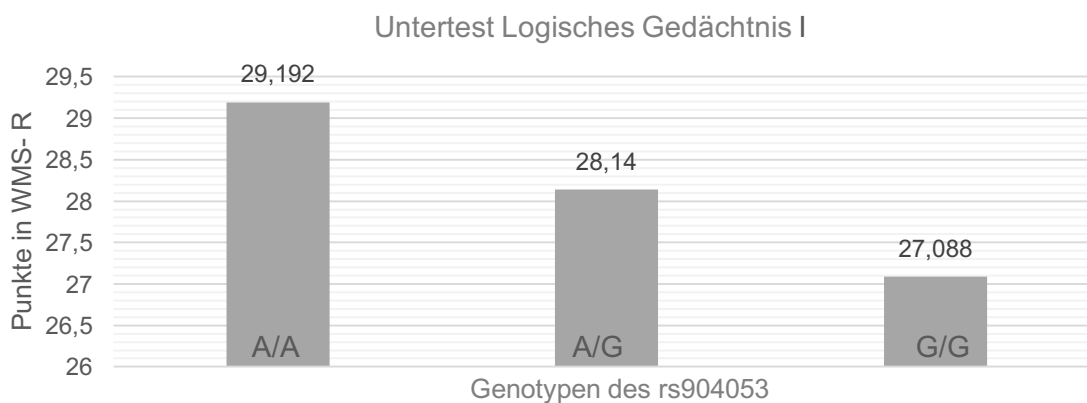


Abbildung 18: WMS-R- Punktezahlen im Untertest Logisches Gedächtnis I im Vergleich zu den Genotypen des rs904053

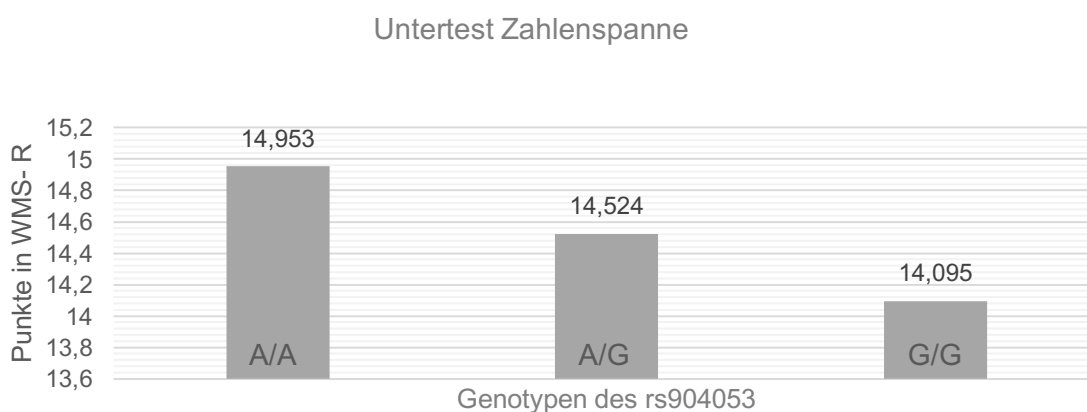


Abbildung 19: WMS-R- Punktezahlen im Untertest Zahlenspanne im Vergleich zu den Genotypen des rs904053

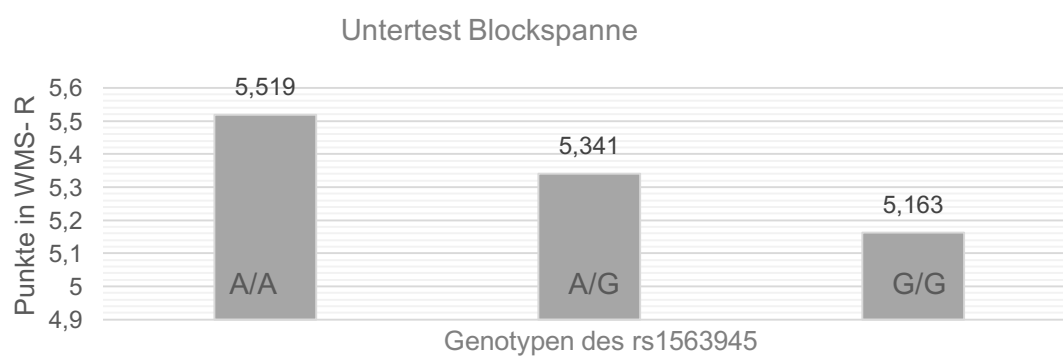


Abbildung 20: WMS-R- Punktezahlen im Untertest Blockspanne im Vergleich zu den Genotypen des rs904053

3.3 Haplotypen

Für das PNOC-Gen konnte mit Hilfe von Haploview anhand der genotypisierten SNP ein Linkage Disequilibrium (LD) - Block identifiziert werden (Barrett et al., 2005). In diesem 20kb großen Block sind die Polymorphismen rs1563945, rs2722900, rs2614100 und rs2280928 enthalten (Abbildung 21).

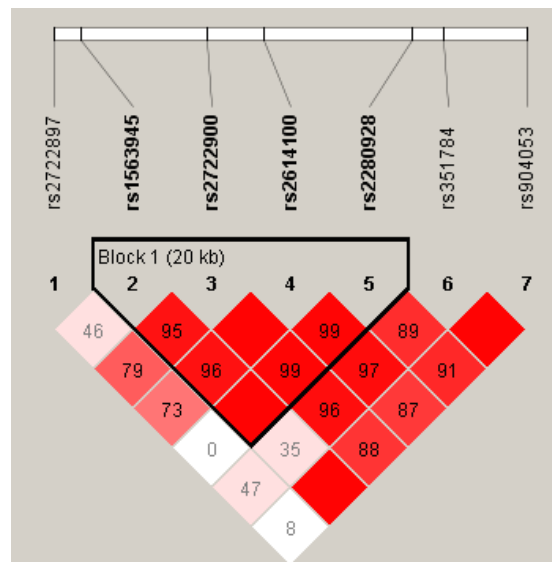


Abbildung 21: LD-Block und Haplotypen des PNOC-Gens

Dieser LD-Block wurde auf einen Zusammenhang zwischen kognitiven Fähigkeiten und den Haplotypen des PNOC-Gens untersucht. Die Stichprobengröße betrug 524 Individuen, darunter 178 Schizophreniepatienten und 346 Gesunde (Tabelle 62).

Tabelle 62: Haplotypen und deren geschätzte Frequenzen für alle Studienteilnehmer

LD-Block	Haplotyp	Frequenz
rs1563945 – rs2722900 - rs2614100 – rs2280928	ATGG	0,490
	ACAA	0,268
	CCAG	0,148
	ACAG	0,087

Die Analyse zeigte einen Trend des Haplotypen mit der Allelsequenz CCAG zu besseren Leistungen in dem WMS-R Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis (sim. $P=0,058$). Es wurde weiterhin geprüft, ob Zusammenhänge zwischen den Haplotypen und den WMS-R Untertests bestehen. Hierbei wurde eine signifikante Assoziation desselben Haplotypen CCAG mit dem WMS-R Untertest Visuelle Wiedergabe I festgestellt. In diesem Untertest zeigten Personen mit dem Haplotypen CCAG signifikant bessere Leistungen (sim. $P=0,039$). Ebenfalls zeigte die Prüfung einen

Trend zu besseren Leistungen des Haplotypen CCAG im Untertest Visuelle Wiedergabe II (sim. P= 0,056).

Einen Trend zu schlechteren Leistungen im WMS-R Untertest Visuelle Paarererkennung II zeigte der Haplotyp ACAA (sim. P= 0,060) (Tabelle 63).

Tabelle 63: Überblick Haplotypen in Bezug auf WMS-R Ergebnisse

		Haplotypen des LD-Blocks rs1563945 – rs2722900 - rs2614100 – rs2280928							
		ATGG		ACAA		CCAG		ACAG	
		Score	Sim. P	Score	Sim. P	Score	Sim. P	Score	Sim. P
WMS-R Leistungsaspekte	Verbales Gedächtnis	0,836	0,406	-1,145	0,253	-0,502	0,585	1,424	0,153
	Visuelles Gedächtnis	-0,447	0,687	-0,237	0,820	1,986	0,058	-1,085	0,263
	Allgemeines Gedächtnis	0,465	0,643	-0,980	0,314	0,418	0,696	0,659	0,515
	Aufmerksamkeit	-0,073	0,947	-0,688	0,493	0,594	0,555	0,413	0,686
	Verzögertes Gedächtnis	-0,108	0,924	-0,722	0,476	0,614	0,568	0,637	0,515
WMS-R Untertests	Mentale Kontrolle	-0,506	0,636	0,766	0,423	0,147	0,900	-0,509	0,637
	Figurales Gedächtnis	-1,352	0,182	1,178	0,246	0,556	0,581	-0,060	0,960
	Logisches Gedächtnis I	1,176	0,239	-1,338	0,174	-0,544	0,559	1,211	0,207
	Visuelle Paarererkennung I	-0,319	0,741	-0,252	0,822	1,000	0,309	-0,184	0,857
	Verbale Paarererkennung I	-1,206	0,234	0,351	0,731	0,001	1,000	1,626	0,101
	Visuelle Wiedergabe I	-0,065	0,951	-0,479	0,651	2,132	0,039	-1,542	0,131
	Zahlenspanne	0,712	0,483	-0,897	0,365	-0,091	0,930	0,567	0,572
	Blockspanne	-0,836	0,400	-0,343	0,733	1,116	0,263	0,185	0,857
	Logisches Gedächtnis II	0,356	0,729	0,050	0,953	-1,272	0,205	0,923	0,366
	Visuelle Paarererkennung II	0,554	0,576	-1,900	0,060	1,025	0,307	0,850	0,388
	Verbale Paarererkennung II	-0,407	0,682	-1,111	0,274	1,440	0,125	0,857	0,383
	Visuelle Wiedergabe II	-0,683	0,506	-0,495	0,628	1,839	0,056	-0,293	0,757

4 DISKUSSION

4.1 Übersicht und Interpretation der Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Studie war es, sowohl Allel- und Genotyphäufigkeiten sowie Haplotypen unter Schizophreniepatienten und gesunden Kontrollprobanden zu analysieren, als auch Assoziationen zwischen Basenaustausch-Polymorphismen mit kognitiven Fähigkeiten zu identifizieren. Als Messinstrument für kognitive Leistungen diente der Wechsler Gedächtnistest in der revidierten Fassung (WMS-R). Die SNPs wurden mittels des iPlex-Verfahrens genotypisiert.

In die vorliegende Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurden 510 Schizophreniepatienten und 1321 Kontrollprobanden eingeschlossen. Es konnte kein Zusammenhang zwischen den sieben Einzelnukleotidpolymorphismen rs2722897, rs1563945, rs2722900, rs2614100, rs 2289928, rs351784 und rs904053 im PNOC-Gen und der Krankheitsentität Schizophrenie beobachtet werden. Zwischen der Patienten- und Kontrollkohorte zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Genotypfrequenzen.

Bei der Untersuchung der Gedächtnisleistungen im Zusammenhang mit den Genotypen der untersuchten SNPs von PNOC wurden 178 Schizophreniepatienten und 346 Kontrollprobanden untersucht. Es zeigten sich in dieser Endophänotypen-Studie und Haplotypenanalyse Trends und signifikante Assoziationen zwischen den drei SNPs rs1563945, rs2614100 und rs904053 und Leistungen in der WMS-R:

Für rs1563945 (Effektallel C) zeigten Probanden mit dem Genotyp C/C in dem Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis, sowie in den Untertests Visuelle Wiedergabe I und Blockspanne einen Trend zu signifikant besseren Ergebnissen als diejenigen Probanden mit den Genotypen A/A und A/C. Diese Ergebnisse stehen in Kongruenz zu denen der Haplotypenanalyse. Für den Haplotypen CCAG, in dem das C-Allel von rs1563945 enthalten ist, wurden ebenfalls bessere Leistungen in den Bereichen Visuelles Gedächtnis, Visuelle Wiedergabe I und II erzielt. Bei dem komplementären A-Allel, das im Haplotypen ACAA enthalten ist, wurden schlechtere Leistungen im Untertest Visuelle Paarerkennung II erzielt.

Für rs2614100 (Effektallel G) zeigten Probanden mit dem Genotyp A/A in dem Untertest Figurales Gedächtnis einen Trend zu signifikant besseren Ergebnissen als

diejenigen Probanden mit den Genotypen G/G und A/G. Diese Ergebnisse stehen teilweise in Kongruenz zu denen der Haplotypanalyse. Für den Haplotypen CCAG, in dem das A-Allel von rs2614100 enthalten ist, wurden ebenfalls bessere Leistungen in den Bereichen Visuelles Gedächtnis, Visuelle Wiedergabe I und Visuelle Wiedergabe II erzielt. Das A-Allel ist jedoch als Teil des Haplotypen ACAA auch mit schlechteren Leistungen im Untertest Visuelle Paarererkennung assoziiert.

Für rs904053 (Effektallel G) zeigten Probanden mit dem Genotyp A/A in den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis und Allgemeines Gedächtnis, sowie in den Untertests Logisches Gedächtnis I und Visuelle Paarererkennung II signifikant bessere Ergebnisse als diejenigen mit den Genotypen G/G und A/G. Außerdem zeigten Probanden mit dem Genotyp A/A im Untertest Zahlenspanne einen Trend zu signifikant besseren Ergebnissen als diejenigen Probanden mit dem Genotyp G/G und A/G. Dieser SNP war nicht Teil des LD-Blocks, für den die Haplotypanalyse durchgeführt wurde,

Bei der Analyse der aus den SNPs rs1563945, rs2722900, rs2614100 und rs2280928 gebildeten Haplotypen zeigte die Allelsequenz CCAG des LD-Blocks einen Trend zu besseren Leistungen im Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis. Im Untertest Visuelle Wiedergabe I wurden signifikant bessere Leistungen erzielt. Bei der Visuellen Wiedergabe II zeigte sich ein Trend zu besseren Leistungen. Bei der Allelsequenz ACAA des LD-Blocks dagegen zeigte sich ein Trend zu schlechteren Leistungen im Untertest Visuelle Paarererkennung II.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass die Polymorphismen rs1563945, rs2614100 und rs904053 in PNOC bestimmte Gedächtnisleistungen, die mittels der WMS-R erhoben werden können, beeinflussen. Signifikante Ergebnisse zeigten sich in den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis und Allgemeines Gedächtnis und bei den Untertests Logisches Gedächtnis I und Visuelle Paarererkennung II. Trends zur Signifikanz konnten im Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis sowie bei den Untertests Visuelle Wiedergabe I, Blockspanne, Figurales Gedächtnis und Zahlenspanne aufgezeigt werden.

Das jeweils seltenere Allel bei den SNPs rs2614100 und rs904053 war mit schlechteren Leistungen in den entsprechenden Indizes assoziiert. Bei dem SNP rs1563945 war das seltenere Allel mit besseren Leistungen verknüpft. Die

Ergebnisse der Haplotypanalyse können als Hinweis auf eine Beeinflussung des identifizierten LD-Blocks (rs1563945 – rs2722900 – rs2614100 – rs2280928) mit der Allelsequenz CCAG auf visuelle Funktionen verstanden werden. Die Allelsequenz CCAG war mit besseren Leistungen im Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis und in den Untertests Visuelles Gedächtnis I und II verknüpft. Die Einzelanalysen der im LD-Block enthaltenen SNPs rs1563945 und rs2614100 konnten dieses Ergebnis untermauern: Bei dem SNP rs1563945 erwies sich das C-Allel ebenfalls als mit besseren Leistungen bei visuellen Funktionen verbunden, sowie bei dem SNP rs2614100 das A-Allel einen Trend zu besseren Leistungen im Untertest Figurales Gedächtnis zeigte.

4.2 Diskussion der Methodik

Ethnische Abstammung

Physiologischer Weise zeigen unterschiedliche Ethnien verschiedene Ausprägungen in Allel- und Genotypfrequenzen. Die Prävalenz der Schizophrenie zeigt zwar unter verschiedenen Ethnien ähnliche Häufigkeiten (Tandon et al. 2008), dennoch müssen mögliche Variationen aufgrund einer bestimmten, ethnischen Herkunft berücksichtigt werden, da andernfalls beim Vergleich heterogener Gruppen Verzerrungen oder falsch-positive bzw. falsch-negative Ergebnisse (Populationsstratifikationseffekte) auftreten können (Holliday et al., 2008; Owen et al., 2004).

Um eine valide Aussagekraft gewährleisten zu können, sollten daher in Assoziationsstudien wie der vorliegenden die Studienteilnehmer eine möglichst übereinstimmende Ethnizität vorweisen können. Es wurden daher nur Personen aus dem Raum München in diese Studie eingebunden, deren Eltern und Großeltern jeweils kaukasischer Herkunft waren.

Im Rahmen des öffentlich zugänglichen HapMap Project wurde bis 2016 ein Register geführt, das Variationen des humanen Genoms enthielt und durch zusammentragende Arbeitsgruppen verschiedener Länder gespeist wurde. In Tabelle 64 (S. 109) sind die durchschnittlichen Variationen der untersuchten SNPs des PNOC-Gens aus verschiedenen Bevölkerungsgruppen laut HapMap Project und diejenigen aus der vorliegenden Studie zusammengetragen (HapMap 2015).

Tabelle 64: Allelfrequenzen und Genotypen für die untersuchten Polymorphismen

rs2722897	A	G	A/A	A/G	G/G
Vorliegende Studie (n=1820)	0,091	0,909	0,009	0,163	0,827
HapMap-CEU (n=226)	0,119	0,881	0,018	0,204	0,779
HapMap-HCB (n=86)	0,140	0,860	-	0,279	0,721
HapMap-JPT (n=172)	0,256	0,744	0,047	0,419	0,535
HapMap-YRI (n=226)	0,549	0,451	0,319	0,460	0,221
rs1563945	A	C	A/A	A/C	C/C
Vorliegende Studie (n=1788)	0,855	0,145	0,728	0,254	0,018
HapMap-CEU (n=226)	0,832	0,168	0,673	0,319	0,009
HapMap-HCB (n=86)	0,837	0,163	0,674	0,326	-
HapMap-JPT (n=172)	0,738	0,262	0,512	0,453	0,262
HapMap-YRI (n=226)	0,615	0,385	0,416	0,398	0,186
rs2722900	C	T	C/C	C/T	T/T
Vorliegende Studie (n=1793)	0,522	0,478	0,261	0,523	0,216
HapMap-CEU (n=2)	0,500	0,500	-	1,00	-
HapMap-HCB (k.A.)	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
HapMap-JPT (k.A.)	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
HapMap-YRI (k.A.)	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
rs2614100	A	G	A/A	A/G	G/G
Vorliegende Studie (n=1794)	0,516	0,484	0,256	0,518	0,225
HapMap-CEU (n=226)	0,500	0,500	0,274	0,451	0,274
HapMap-HCB (n=86)	0,872	0,128	0,744	0,256	-
HapMap-JPT (n=172)	0,878	0,122	0,767	0,221	0,012
HapMap-YRI (n=226)	0,973	0,027	0,947	0,053	-
rs2280928	C	T	C/C	C/T	T/T
Vorliegende Studie (n=1819)	0,277	0,723	0,078	0,398	0,524
HapMap-CEU (n=120)	0,700	0,300	0,533	0,333	0,133
HapMap-HCB (n=86)	0,547	0,453	0,256	0,581	0,163
HapMap-JPT (n=90)	0,644	0,356	0,444	0,400	0,156
HapMap-YRI (n=118)	0,898	0,102	0,797	0,203	-
rs351784	C	G	C/C	C/G	G/G
Vorliegende Studie (n=1759)	0,126	0,874	0,019	0,214	0,767
HapMap-CEU (n=226)	0,128	0,872	0,009	0,239	0,752
HapMap-HCB (n=86)	0,302	0,698	0,023	0,558	0,419
HapMap-JPT (n=172)	0,442	0,558	0,244	0,395	0,360
HapMap-YRI (n=226)	0,624	0,376	0,363	0,522	0,115
rs904053	A	G	A/A	A/G	G/G
Vorliegende Studie (n=1810)	0,764	0,236	0,583	0,362	0,055
HapMap-CEU (n=226)	0,770	0,230	0,611	0,319	0,071
HapMap-HCB (n=86)	0,663	0,337	0,442	0,442	0,116
HapMap-JPT (n=172)	0,651	0,349	0,407	0,488	0,105
HapMap-YRI (n=224)	0,969	0,031	0,938	0,063	-

HapMap-CEU= Einwohner aus Utah (USA) mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa; HapMap-HCB= Han Chinesen aus Beijing; HapMap-JPT= Japaner aus Tokyo; HapMap-YRI= Yoruba aus Ibadan, Nigeria

Soweit sich aufgrund vorhandener Daten diesbezüglich eine Aussage treffen lässt, ähneln die Allel- und Genotypfrequenzen der vorliegenden Studie am ehesten denjenigen der Stichprobe HapMap-CEU. Dies spricht für eine Validität der Ergebnisse.

Es lässt sich eine Vielfaltigkeit der Verteilung der Frequenzen erkennen. Dies unterstreicht die Wichtigkeit der Trennung der Stichproben anhand ihrer Abstammung und sollte beim Vergleich und der Interpretation von Studien bedacht werden. Sowohl bei der Durchführung der vorliegenden Studie als auch der Referenzstudien von Imai et al. und Blaveri et al. wurde dies bedacht. Bei Imai et al. waren sämtliche Studienteilnehmer von japanischer Ethnizität (Imai et al., 2001). Blaveri et al. befragten alle Teilnehmer, ob ihre Eltern und Großeltern irischer, walischer, schottischer oder englischer Abstammung waren und schlossen diejenigen mit zwei oder mehr Großeltern anderer Herkunft aus der Studie aus (Blaveri et al., 2001).

Da es unwahrscheinlich ist, dass genetische Faktoren die alleinige Ursache für variierende kognitive Leistungen sind und zusätzlich exogene Faktoren zu berücksichtigen sind (Owen et al., 2016), sollten Untersuchungen bei weiteren Populationen, die unter anderen äußeren Einflüssen stehen, durchgeführt werden, um die konkrete Beteiligung des PNOC-Gens an individuellen kognitiven Fähigkeiten näher bestimmen zu können.

Diagnoseverfahren, Ein- und Ausschlusskriterien

Eine Beeinflussung der Ergebnisse durch verschiedene Variablen, unterschiedliche Diagnoseverfahren und/ oder Einschlusskriterien kann vermieden werden, indem bestimmte Bedingungen möglichst kongruent erfüllt wurden. Die vorliegende Studie hatte daher den Anspruch durch das Aufstellen strenger Ein- und Ausschlusskriterien eine möglichst hohe Homogenität zu erzielen und statistische Gütekriterien zu erfüllen.

Zur Wahrung der Objektivität erfolgte in einem einheitlichen, mehrstufigen Diagnoseverfahren zunächst die Rekrutierung der gesunden Probanden. Bei ihnen und ihren Verwandten mussten neuropsychiatrische Erkrankungen ausgeschlossen sein. Die Tauglichkeit für den Studieneinschluss wurde anhand von Anamnesebögen und Testverfahren (SKID, FHAM) geprüft. Bei der Rekrutierung von Patienten war im Rahmen des SKID teilweise eine subjektive Begutachtung durch den Untersucher erforderlich. Hierbei wurde auf die wahrheitsgetreue Auskunft der Teilnehmer vertraut. Die gegebenen Informationen wurden durch Arztbriefe verifiziert. Durch eine bewusst oder unbewusst falsch wiedergegebene Angabe zu Krankheitsgeschichte und/ oder –verlauf durch den Patienten oder durch die subjektive Einschätzung durch

den Untersuchenden besteht in diesem Rahmen die Möglichkeit einer negativen Beeinflussung der Objektivität.

Die teilnehmenden Schizophreniepatienten erfüllten die DSM-IV-Kriterien für Schizophrenie und wiesen abgesehen davon eine blande Anamnese für andere neuropsychiatrische Erkrankungen auf. Damit war eine ausreichend hohe Reliabilität gewährleistet. Es bestanden jedoch Unterschiede im Patientenkollektiv bezüglich Medikation, Dauer und Schwere der Erkrankung. Es wurde keine Einteilung der Erkrankung in Subtypen vorgenommen.

Um eine optimale Vergleichbarkeit von Studien herzustellen und genomische Befunde spezifisch zu erheben wären einheitliche Screening- und Diagnoseverfahren mit exakter Eingrenzung des Krankheitsbilds ideal. Zwischen der vorliegenden Studie und der von Imai et al. ist dies gegeben, da jeweils Schizophreniepatienten eingeschlossen wurden, die die DSM-IV Kriterien erfüllten (Imai et al., 2001).

Von Blaveri et al. wurde bei allen Studienteilnehmer das Lifetime Version of the Schizophrenia and Affective Disorders Schedule (SADS-L) zum Screening bzw. der Diagnosestellung verwendet. Die Probanden des Patientenkollektivs wurden anschließend anhand des OPCRIT-Systems eingeschätzt (Blaveri et al., 2001). Das SADS-L ist ein semi-strukturiertes Interview und orientiert sich an den Research Diagnostic Criteria und den Kriterien des DSM-III. Es unterscheidet sich insbesondere in zeitlichen Eigenschaften von den hier verwendeten Instrumenten und lässt somit eine gute Vergleichbarkeit zu.

Alter und Geschlecht

Um eine valide Aussagekraft zu erreichen, sollten sich Kontroll- und Patientenkollektiv im Hinblick auf die Kriterien Alter und Geschlecht annähernd identisch verhalten. Die Kontrollprobanden der vorliegenden Studie waren mit einem Durchschnittsalter von 48,20 Jahren älter als die durchschnittlich 38,89 Jahre alten Schizophreniepatienten.

Günstig ist, dass das Durchschnittsalter der in der vorliegenden Studie untersuchten Kontrollprobanden bei 48,20 Jahren liegt, da sich schizophrene Störungen meist in der Adoleszenz bzw. dem frühen Erwachsenenalter manifestieren (Stilo und Murray, 2010). Dies reduziert die Wahrscheinlichkeit eines noch bevorstehenden Erkrankungsbeginns bei den gesunden Studienteilnehmern und einer irrtümlichen Zuordnung zu dem Kontrollkollektiv.

Bei der Betrachtung des Geschlechterverhältnisses zeigen sich in dieser vorliegenden Studie unausgewogene Proportionen. Hierbei ist wichtig zu berücksichtigen, dass eine protektive Eigenschaft von Östrogen diskutiert wird (McGrath et al., 2008; Häfner, 2003) und sich hierin potentiell widerspiegelt. Die Kontrollprobanden setzten sich zu 47,4% aus Männern und zu 52,6% aus Frauen zusammen, während es im Patientenkollektiv 63,5% Männer und 36,5% Frauen waren.

In der statistischen Berechnung der vorliegenden Studie wurden Alter und Geschlecht daher als Kovariablen einbezogen.

In der Studie von Imai et al. lag das Durchschnittsalter der Kontrollprobanden bei 37,60 Jahren, während die Schizophreniepatienten durchschnittlich 46,80 Jahre alt waren. Damit liegt das durchschnittliche Lebensalter der Kontrollen 10,60 Jahre niedriger als in der vorliegenden Studie. Bei einer Standardabweichung von 11,70 Jahren bei den Kontrollen kann ein möglicher, noch bevorstehender Krankheitsausbruch nicht ausgeschlossen werden. In diesem Fall würden die Ergebnisse verfälscht werden.

Das Kontrollkollektiv bestand zu 30,0% aus männlichen und zu 70,0% aus weiblichen Teilnehmern. Das Patientenkollektiv setzte sich zu 61,0% aus Männern und zu 39% aus Frauen zusammen (Imai et al., 2001). Unter den Patienten befanden sich sowohl in der vorliegenden Studie als auch in der Referenzstudie von Imai et al. mehr männliche als weibliche Probanden.

Ein Vergleich mit der Referenzstudie von Blaveri et al. war bezüglich Alter und Geschlecht der Studienteilnehmer nicht möglich, da sie dazu keine Angaben liefert (Blaveri et al., 2001).

Diagnostik kognitiver Funktion

Nach dem SKID wurde als neuropsychologisches Diagnoseverfahren in der vorliegenden Arbeit der Wechsler Gedächtnistest in der revidierten Fassung (WMS-R) durchgeführt. Die Testungen wurden unter möglichst ähnlichen Bedingungen durchgeführt. Aus den fünf Leistungsaspekten und 13 Untertests wurden die Rohwerte statistisch ausgewertet. Die WMS-R stellt eine objektive, genügend reliable und valide Methode zur Erfassung kognitiver Störungen dar (Härting et al., 2000). Sie zeigt eine ausreichende Objektivität, da anhand des Testmanuals konkrete Vorgaben zur Auswertung mit typischen Antwortmöglichkeiten bestehen. Eine geringe

individuelle Differenz der Handlungsspielräume der Versuchsleiter war unvermeidbar. Jedoch wurden in der Studienführung mehrmalig sorgfältige Kontrollen sowohl der Durchführung als auch der Auswertung vorgenommen, so dass von objektiven Ergebnissen dieser Arbeit gesprochen werden kann.

Die WMS-R vermag Leistungen des verbalen, visuellen und verzögerten Gedächtnisses, sowie von Aufmerksamkeit und Konzentration zu messen. Sie gilt jedoch als sprachlastig. In der vorliegenden Studie zeigten sich signifikante Assoziationen in den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis und Allgemeines Gedächtnis, sowie in den Untertests Logisches Gedächtnis I und Visuelle Paarerkenkung II. Der Subtest Logisches Gedächtnis I prüft die Kapazität des phonologischen Anteils des Kurzzeitgedächtnisses, während der Subtest Visuelle Paarerkenkung I die Kapazität des räumlich-visuellen Anteil des Kurzzeitgedächtnisses prüft (Calabrese, 1997).

Zur Vertiefung der Ergebnisse der vorliegenden Studie könnten weitere neuropsychologische Testverfahren eingesetzt werden, die sowohl räumlich-visuelle, als auch allgemein verbale Gedächtnisfunktionen prüfen. Vor dem Hintergrund der positiven Ergebnisse der Allelsequenz CCAG des untersuchten LD-Blocks bezüglich visueller Funktionen und der Tatsache, dass in den letzten Jahren der Zusammenhang zwischen dem ORL-1- Rezeptor und dem räumlichen Gedächtnis zunehmend wissenschaftliche Beachtung erfahren hat (Andero, 2015; Kuzmin et al., 2009), könnte beispielsweise die computergestützte Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB) eingesetzt werden, die mittels nonverbal eingesetzter Stimuli wie geometrischer Formen oder Muster die räumlich-visuelle, kognitive Leistung erfasst (Robbins et al., 1994). Einen weiteren Test zur Prüfung des räumlich-visuellen Kurz- und Langzeitgedächtnis stellt der Namen- und Gesichtertest dar. Bei ihm werden den Probanden für eine Minute mehrere Photographien von Gesichtern von Erwachsenen gezeigt, die mit einem Namen konnotiert sind. Im direkten Anschluss und erneut nach 24 Stunden werden dieselben Photographien in einer anderen Reihenfolge und ohne Namen präsentiert und die Probanden werden aufgefordert sich an die entsprechenden Namen zu erinnern (DeFries et al., 1981).

Weitere Testverfahren, die der Untersuchung des verbalen Gedächtnisses dienen, sind z. B. der Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest oder der California Verbal Learning Test (Helmstaedter et al., 2001; Niemann et al. 2008).

Heterogenität

Dass die Schizophrenie als eine Erkrankung mit multifaktorieller und polygener Genese angesehen wird, bedeutet, dass unterschiedlichste Krankheitsausprägungen durch multiple Faktoren hervorgerufen werden können (Brown, 2011; Owen et al., 2016). Auch Umweltfaktoren können die Entstehung der Erkrankung beeinflussen (Tandon et al., 2008). Per polygener Vererbung können unterschiedliche Gene in einem unterschiedlichen Maß zur individuellen Krankheitsausprägung beitragen und auch relevante Überschneidungen zu anderen psychiatrischen Erkrankungen wie bipolaren Störungen oder Autismus zeigen (Gejman et al., 2011; Nöthen et al., 2004; Owen et al., 2004; Schmitt et al., 2016).

Unter der Diagnose Schizophrenie wird ein sehr heterogenes und komplexes Krankheitsbild mit mannigfaltigen Symptomen verstanden (Owen et al., 2016). Sie sind quantitativ und qualitativ schwer zu erfassen, was sich bereits aus dem Umfang des Klassifikationssystems nach ICD-10 erkennen lässt. Vermutlich beruht die inkonsistente Ergebnislage in der Schizophrenieforschung u. a. auf der Heterogenität der Erkrankung, die die zusammenführende Interpretation verschiedener Schizophreniestudien erschwert (Owen et al., 2004).

Durch diese Tatsachen werden Interpretation und Vergleich von Befunden aus Studien zur Schizophrenie erschwert (Greenwood et al., 2016).

Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Assoziationsstudie, den Studien von Blaveri et al. und Imai et al. erscheint ein Zusammenhang zwischen PNOC und der Erkrankung der Schizophrenie als eher unwahrscheinlich. Ebenfalls fehlen Hinweise darauf aus durchgeführten Kandidatengenstudien und GWAS (Greenwood et al., 2016; Lencz et al., 2014; Ripke et al., 2014; Schmitt et al., 2016; Stefansson et al., 2009).

Die Exploration von Endophänotypen, wie zum Beispiel kognitiven Fähigkeiten, stellt einen Versuch dar, einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Klinik der Erkrankung und genetischen Befunden herzustellen (Chan und Gottesman, 2008). Aus genetischen Variationen resultierende Endophänotypen können jedoch als polygen und multifaktoriell angesehen werden und weisen wiederum eine komplexe Phänomenologie auf (Braff et al., 2007; Steiner et al., 2013). Dies erschwert das Erkennen der wahrscheinlich ursächlichen Genvarianten und die Abgrenzung zu anderen Erkrankungen mit überlappender Symptomatik (Trampush et al., 2017).

Neben den genetischen Faktoren könnte auch die Erforschung von Umweltfaktoren, zum Beispiel soziale Schicht oder kulturelle Zugehörigkeit, bedeutsam sein, da sie als auslösende Faktoren ebenfalls an der Ätiogenese sowohl der Erkrankung der Schizophrenie als auch den Endophänotypen Kognition beteiligt sein mögen.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

PNOC und Schizophrenie

In der vorliegenden Studie wurde die Assoziation von sieben Basenaustausch-Polymorphismen des möglichen Kandidatengens PNOC (Gurling et al., 2001) mit Schizophrenie und kognitiven Leistungen untersucht.

Das PNOC-Gen ist auf dem Genlocus 8p21 kartiert (Mollereau et al., 1996). In mehreren Studien konnte dieser Chromosomenabschnitt bereits eine ätiogenetische Relevanz für Schizophrenie zeigen (Badner und Gershon, 2002; Blouin et al., 1998; Gurling et al., 2001; Holliday et al., 2008; Holmans et al., 2009; Ng et al., 2009; Pulver, 2000). In einer großen Kopplungsanalyse von 707 europäischen Familien fanden sich die konsistentesten Hinweise in der Region 8p21 (Holmans et al., 2009). Dies kann als Anzeichen für einen möglichen Suszeptibilitätslocus dort verstanden werden. Daher wurde PNOC aufgrund seiner Lage in einer Schizophrenie-Kopplungsregion 8p21 als mögliches Kandidatengen für Schizophrenie angesehen.

Es fanden sich in der vorliegenden Studie jedoch keine signifikanten Assoziationen zwischen den untersuchten SNP rs1563945, rs2722900, rs2614100, rs 2289928, rs351784 und rs904053 des PNOC-Gens und der Erkrankung der Schizophrenie.

Dieses Ergebnis steht in inhaltlicher Kongruenz mit den aktuell veröffentlichten Studien zur Untersuchung einer Assoziation des PNOC-Gens mit der Schizophrenie (Blaveri et al., 2001; Imai et al., 2001). Jedoch wurden in den Vergleichsstudien nicht die in der vorliegenden Studie untersuchten SNPs untersucht.

Es handelt sich bei beiden Vergleichsstudien um Fall-Kontroll-Studien. Die Studie von Blaveri et al. von 2001 untersuchte ein Kollektiv aus 130 Schizophreniepatienten und 316 gesunden Kontrollprobanden britischer Herkunft. Die Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde unter Verwendung des polymorphen Dinukleotidmarkers D8S131 vorgenommen. Die statistische Auswertung zeigte keine signifikanten Unterschiede der Allelfrequenzen des Markers zwischen Schizophreniepatienten und Kontrollen (Blaveri et al., 2001).

Von Imai et al. wurde 2001 ebenfalls eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie durchgeführt. Sie erfolgte an einem Kollektiv japanischer Ethnizität, das aus 100 nicht verwandten Kontrollen und 87 Schizophreniepatienten bestand. Es wurden fünf Variationen aus kodierenden Regionen und im Promotorbereich des PNOC-Gens untersucht. Nach Bonferroni-Korrektur zeigte sich auch in dieser Studie keine Assoziation der Variationen mit Schizophrenie (Imai et al., 2001).

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie bestätigen die Ergebnisse von Blaveri et al., 2001 und Imai et al., 2001, da auch hier keine Assoziationen im Hinblick auf Schizophrenie dokumentiert werden konnten.

Dies steht mit den Ergebnissen mehrerer GWAS zur Schizophrenie im Einklang (Lencz et al., 2007; Ripke et al., 2014; Stefansson et al., 2009). 2014 wurden in einer genomweiten Assoziationsstudie 108 Suszeptibilitätsloci nachgewiesen, von denen 83 bis dato nicht beschrieben worden waren; jedoch befand sich die Region 8p21 und PNOC nicht darunter (Ripke et al., 2014). Diese Studie beinhaltete eine Stichprobe von 150.064 Teilnehmern europäischer und ostasiatischer Ethnizitäten, unter denen sich 36.989 Patienten und 113.075 Kontrollen befanden. Von den 108 signifikant mit der Schizophrenie assoziierten Genregionen befinden sich viele in proteinkodierenden Genregionen, z.B. im Dopamin-Rezeptor-D2-Gen (DRD2, 11q23), im metabotropen Glutamaterezeptor-3-Gen (GRM3, 7q21), im Gen der NMDAR-Untereinheit 2A (GRIN2A, 16p13), im Serin-Racemase-Gen (SRR, 17p13), im Gen der AMPAR-Untereinheit 1 (GRIA1, 5q31) und in Genen der Untereinheiten spannungsabhängiger Kalziumkanäle CACNA1C, CACNB2, CACNA1L (22q13) (Ripke et al., 2014).

Auch in aktuelleren Kopplungsanalysen konnten signifikante Assoziationen für den Genort 8p21 nicht repliziert werden (Greenwood et al., 2016). In einer großen Studie des Consortium on the Genetics of Schizophrenia aus dem Jahr 2013 wurden 1286 Teilnehmer aus 296 Familien genotypisiert und 1004 Personen zudem auf zwölf, zuvor als erblich identifizierte, neurophysiologische und neurokognitive Endophänotypen untersucht und 6055 SNPs getestet. Es wurden dabei zwölf Regionen und mehrere Gene von potentiell neurobiologischem Interesse gefunden, u. a. HTR6 (1p36), ZNF804A (2q32) ATXN (3p14), DAT (5p15), GRIN2B (12p12) und YWHAE (17p13). Für die Suszeptibilitätsloci 1q21, 4q31, 5q22, 6p22, 8p21, 9q21 und 10p11 wurde jedoch kein Hinweis auf Kopplung gefunden (Greenwood et al., 2013).

Perspektivisch könnten die in der vorliegenden Studie untersuchten Marker in Relation zu anderen psychischen Erkrankungen untersucht und quantifiziert werden, da es Gene gibt, die an Entstehungsmechanismen von mehr als einer psychiatrischen Erkrankung beteiligt sein können (Gejman et al., 2011; Nöthen et al., 2004; Owen et al., 2004). Bemerkenswert in diesem Zusammenhang ist das Ergebnis einer chinesischen Studie, die eine marginale Assoziation zweier SNPs von PNOC (rs17058952, rs351779) mit Alkoholismus und eines SNP von PNOC (rs4732636) mit Drogenabhängigkeit aufzeigen konnte (Xuei et al., 2008).

Aufbauend auf die vorliegenden Ergebnisse wäre auch die Untersuchung auf eine Assoziation zwischen dem identifizierten LD-Block und Schizophrenie interessant. Aufgrund der Komplexität der Genetik der Schizophrenie und ihren variierenden Phänotypen könnte der Ansatz der Endophänotypen zu ihrer weiteren Erforschung beitragen. In dieser Intention wäre für zukünftige Untersuchungen denkbar, einen Zusammenhang zwischen PNOC-Polymorphismen und weiteren neuropsychologischen und/oder neurophysiologischen Endophänotypen zu untersuchen.

PNOC und Kognitionsuntersuchungen

In der vorliegenden Studie wurden sieben SNPs von PNOC auf einen Zusammenhang mit kognitiven Leistungen, die mittels WMS-R gemessen wurden, geprüft. Das PNOC-Genprodukt Nozizeptin bindet an den ORL-1 (Calo et al., 2000) und bewirkt über seine Aktivierung eine direkte Hemmung dopaminerger Neurone. Nozizeptin bewirkt außerdem eine verringerte Ausschüttung von Glutamat, u.a. in Neuronen der Amygdala und des Zerebellums (Reinscheid, 2006). Es kann damit in die dopaminerge und glutamaterge Neurotransmission eingreifen. Dopaminerge und glutamaterge Neurotransmittersysteme werden als bedeutsam für die Pathogenese der Schizophrenie angesehen (Kristiansen et al., 2007; Howes et al., 2015; Stone et al., 2008; Roberts et al., 2010). Ebenso stellen sie elementare Bausteine der Neurotransmission für kognitive Funktionen dar (Cropley et al., 2006; Lewis und Moghaddam, 2006).

Es konnten die drei SNPs rs1563945, rs2614100, rs904053 identifiziert werden, die mit Trends zu besseren Leistungen bzw. mit signifikant besseren Leistungen in der WMS-R gekennzeichnet waren. Bei der Analyse der Haplotypen zeigte die Allelsequenz CCAG des LD-Blocks einen Trend zu besseren Leistungen im

Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis (sim. $p = 0,058$), sowie signifikant bessere Leistungen im Untertest Visuelle Wiedergabe I (sim. $p = 0,039$) und einen Trend zu besseren Leistungen im Untertest Visuelle Wiedergabe II (sim. $p = 0,056$), während bei der Allelsequenz ACAA des LD-Blocks sich ein Trend zu schlechteren Leistungen im Untertest Visuelle Paarerkennung II zeigte (sim. $p = 0,060$).

Die SNPs rs1563945 und rs2614100 befinden sich in intronischen Bereichen, so dass ein Basenaustausch nicht unmittelbar zur Änderung der Aminosäuresequenz des Genprodukts führen muss. Dennoch könnten diese SNPs über Genregulationsprozesse und das alternative Spleißen einen indirekten Einfluss auf die Genexpression nehmen.

SNP rs904053 ist in der 3'-Genregion von PNOC sowie vom benachbarten ZNF395-Gen lokalisiert. Die Expression des zellulären Faktors ZNF395 ist bei verschiedenen Krebsarten, wie Nierenzellkarzinomen, Osteosarkomen und Ewing-Sarkomen signifikant erhöht. Jedoch ist seine biologische Aktivität nahezu unbekannt (Jordanovski et al., 2013). Zur Vertiefung der vorliegenden Ergebnisse wäre eine Untersuchung von ZNF395 in Zusammenhang mit Kognition denkbar.

Vergleichsmöglichkeiten zu dieser vorliegenden Studie bieten GWAS, die Kognition untersuchen. Im Gegensatz zu solchen GWAS, die quantitativ gut messbare Phänotypen wie BMI oder Größe untersucht haben, hat es sich trotz erheblicher Hinweise aus Familien- und Zwillingsstudien, zunächst als schwierig erwiesen, Genloci zu finden, die mit kognitiven Fähigkeiten assoziiert sind (Trampush et al., 2017).

Die ersten positiven Ergebnisse betrafen drei Loci auf den Chromosomen 6, 14 und 19 und wurden im Rahmen einer 53.949 Teilnehmer umfassenden GWAS über allgemeine kognitive Funktion nachgewiesen (Davies et al., 2015).

In einer weiteren, metaanalytischen GWAS wurden SNPs bei 35.298 gesunden Teilnehmern europäischer Herkunft auf kognitive Funktionen untersucht. Es konnten die SNPs rs76114856 im CENPO-Gen auf Chromosom 2 und rs6669072 nahe LOC105378853 auf Chromosom 1 identifiziert werden, die signifikant mit kognitiver Leistung assoziiert sind. Zusätzlich wurden drei Loci auf 17q21.31, 17p13.1 und 1p13.3 identifiziert (Trampush et al., 2017). In einer weiteren GWAS von Davies et al. wurden die kognitiven Funktionen verbal-numerisches Denken, Gedächtnis und Reaktionszeit und das Bildungsniveau untersucht, wobei signifikante Assoziationen

mit SNPs in 20 genomischen Regionen und mit 46 Genregionen nachgewiesen werden konnten (Davies et al., 2016). Lam et al. veröffentlichten eine weitere große GWAS, bei der 107.207 Teilnehmer auf allgemeine kognitive Fähigkeiten geprüft wurden (Lam et al., 2017).

Assoziationen mit der Region 8p21 und PNOC konnten jedoch in keiner der genannten GWAS nachgewiesen werden (Davies et al., 2015; Davies et al., 2016; Lam et al., 2017; Trampush et al., 2017).

Trotz negativer Ergebnisse in GWAS und in Anbetracht der Ergebnisse der vorliegenden Studie könnte eine Relevanz von PNOC auf kognitive Fähigkeiten bestehen. Zum einen gilt es zu berücksichtigen, dass GWAS auch Einschränkungen mit sich bringen. Es werden z. B. nur Assoziationen von häufigen Varianten entdeckt, während die der seltenen unentdeckt bleiben. Es sind sehr umfangreiche Samples notwendig, um signifikante Ergebnisse erzielen zu können, da die Effektgröße eines einzelnen Genlocus oder Markers, der mit kognitiven Leistungen verknüpft sein könnte, sehr klein ist (Ripke et al., 2014). Es wurden mehrere GWAS zur Kognition mit weniger als 20.000 Teilnehmern durchgeführt, die genomweit keine signifikanten Effekte abbildeten, während jene mit 35.298 bzw. 53.949 Teilnehmern einige Loci identifizieren konnten (Lam et al., 2017). Das Zusammenschließen von Forschungsgruppen zu Konsortien ermöglicht die notwendige Erweiterung der Stichprobengröße.

Zum anderen handelt es sich bei der Kognition um einen klinisch heterogenen, heritablen Phänotyp mit polygenem Vererbungsmuster. Bei den beiden von Trampush et al. identifizierten SNPs waren die Effektgrößen erheblich kleiner als jene, die für die Loci beobachtet wurden, die mit quantitativen Merkmalen wie Höhe oder Gewicht assoziiert wurden. Dies könnte die Komplexität der zugrundeliegenden polygenetischen Architektur der Kognition widerspiegeln. Die relative Heterogenität des zu messenden kognitiven Phänotyps stellt zudem eine weitere Schwierigkeit dar, da ihr mehrere Subdomänen (u.a. Sprache, Wahrnehmung, Aufmerksamkeit, Konzentration, Gedächtnis) zugrunde liegen, die in den Kohorten jeweils unterschiedlich gemessen werden können (Trampush et al., 2017).

Als weitere Referenz können außerdem Studien betrachtet und verglichen werden, die das Nozizeptin/ ORL-1- System in Zusammenhang mit kognitiven Leistungen behandeln.

Solche Studien wurden bisher nur an Tiermodellen durchgeführt und deuten auf eine Beteiligung des Nozizeptin/ ORL-1- Systems an der Regulation von Lern- und Gedächtnisprozessen hin (Andero, 2015; Goeldner et al., 2009; Hiramatsu und Inoue, 1999; Manabe et al., 1998; Noda et al., 2000; Sandin et al., 1997). In den letzten Jahren hat insbesondere der Zusammenhang zwischen ORL-1- Rezeptor und dem räumlichen Gedächtnis zunehmend wissenschaftliche Beachtung erfahren (Andero, 2015; Kuzmin et al., 2009). In der vorliegenden Untersuchung hingegen wurde die Funktion des räumlichen Gedächtnisses nicht erfasst.

Die gefundenen signifikanten Zusammenhänge und Trends geben jedoch Hinweise darauf, dass PNOC ebenfalls an den kognitiven Endophänotypen Allgemeines und Verbales, sowie Visuelles Gedächtnis beteiligt sein könnte.

Ein direkter Vergleich der vorliegenden Studie mit den oben genannten Untersuchungen im Tiermodell ist zwar nicht möglich, jedoch lässt sich festhalten, dass mehrere Hinweise darauf bestehen, dass Genprodukte bzw. Variationen von PNOC an der Ausprägung von Lern- und Gedächtnisprozessen beteiligt sind. Es wäre nötig, die in dieser Studie gezeigten signifikanten Assoziationen durch Replikation an weiteren Stichproben zu validieren, um gültige Aussagen treffen zu können.

PNOC kodiert ebenfalls für die Peptide Nozistatin und Orphanin FQ2 (OFQ-2) (Imai et al., 2001; Blaveri et al., 2001). Über ihre funktionelle Rolle ist weniger bekannt, jedoch gibt es Hinweise darauf, dass Nozistatin antagonistische Effekte auf das Nozizeptin-System aufweist und damit einen positiven Einfluss auf Gedächtnisfunktionen nehmen kann (Andero, 2015; Hiramatsu und Inoue, 1999; Okuda-Ashitaka und Ito, 2015; Mallimo und Kusnecov, 2013).

Das größte Potential liegt dabei nach Interpretation der vorliegenden Studie in der weiteren Untersuchung des Markers rs904053, da hier die aussagekräftigsten Ergebnisse erzielt wurden. Der außerhalb des LD-Blocks liegende SNP rs904053 war beim Genotyp A/A mit besseren Testwerten in zwei Leistungsaspekten der WMS-R assoziiert. Eine nähere Betrachtung des sich über rs1563945, rs2722900, rs2614100, rs2280928 erstreckenden LD-Blocks mit der Sequenz CCAG, der mit besseren Ergebnissen in drei Bereichen der WMS-R assoziiert war, stellt ebenfalls einen vielversprechenden Ansatz für zukünftige Studien dar.

Der Nachweis und die Identifizierung von Endophänotypen bringt die Möglichkeit mit sich, die Aktivität von Kandidatengenen genauer zu betrachten und könnte dazu beitragen den Blick auf die vielschichtige Ätiologie psychiatrischer Erkrankungen zu schärfen. Diese Strategie zur Findung von Suszeptibilitätsgenen hat bereits bei einigen Erkrankungen zu Erfolgen geführt, beispielsweise bei der Hämochromatose, dem Long-QT-Syndrom, der juvenilen myoklonischen Epilepsie und dem Alkoholismus (Zobel und Maier, 2004). Trotz dieser Bemühungen wurden im aktuellen DSM-V keine Biomarker als Kriterien eingeschlossen, da sie noch nicht in der Lage sind, Krankheitsentitäten korrekt und zuverlässig zu identifizieren (Maatz et al., 2015). Durch die weitere Identifizierung von Endophänotypen anhand klinischer Merkmale und/ oder molekularer Marker könnten jedoch in Zukunft Patienten mit eindeutigen pathophysiologischen Abnormitäten früher detektiert und gleichzeitig Therapiestrategien durch eine Entwicklung von kausalen Behandlungsansätzen verbessert werden (Steiner et al., 2013).

4.4 Ausblick

In dieser Studie konnte keine signifikante Assoziation zwischen den Polymorphismen rs2722897, rs1563945, rs2722900, rs2614100, rs2280928 und rs904053 des PNOC-Gens und der Krankheitsentität Schizophrenie gefunden werden. Auch in Kandidatengestudien und GWAS fehlen eindeutige Hinweise darauf, dass PNOC einen Suszeptibilitätslocus für Schizophrenie darstellt. Zukünftige Untersuchungen sollten sich auf Chromosomenregionen und Kandidatengene konzentrieren, die bereits verlässliche Hinweise auf Assoziationen zeigen konnten, u. a. GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1, CACNA1C, CACNB2 und CACNA1L (Ripke et al., 2014). Eine tiefere Exploration beteiligter Gene, Polymorphismen und Endophänotypen würde zu einem besseren Verständnis der Ätiopathogenese der Erkrankung der Schizophrenie führen. Eine solche Grundlagenforschung könnte langfristig das Erkennen und die Prävention erleichtern und potentiell neue Ansätze für eine pharmakologische Therapie darstellen, da eine verlässliche Diagnosestellung in einem prä-morbiden Stadium das Risiko von schweren Episoden reduzieren kann und erfolgreichere Behandlungsergebnisse mit sich bringt.

Im Gegensatz zu den negativen Ergebnissen in Hinblick auf eine Assoziation der 7 SNPs des PNOC-Gens mit Schizophrenie waren die Analysen in Zusammenhang mit kognitiver Leistung vielversprechender. Es konnte eine Assoziation der Variation rs904053 mit besseren Ergebnissen in den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis und Allgemeines Gedächtnis und in den Untertests Logisches Gedächtnis I und Visuelle Paarerkenkung dargestellt werden. Es wurde außerdem ein Trend dieses SNP im Untertest Zahlenspanne gefunden. Bei der Untersuchung der SNP rs1563945 und rs2614100 fanden sich ebenfalls Trends zu besseren Leistungen bei der Überprüfung kognitiver Fähigkeiten.

PNOC könnte daher als mögliches Kandidatengen für Kognition betrachtet werden. Es lassen sich Mutmaßungen anstellen, dass PNOC auf genetischer Ebene einen Einfluss auf das Verbale und Allgemeine Gedächtnis ausübt und an einer reduzierten Gedächtnisleistung mitverantwortlich sein könnte.

Im Fazit sprechen die vorliegenden Ergebnisse für einen Zusammenhang zwischen PNOC-Gen und kognitiven Fähigkeiten. Es bedarf weiterer Untersuchungen dieser Assoziationen, die in unabhängigen Stichproben ähnlicher und/ oder unterschiedlicher Populationen repliziert werden, um die vorliegenden Befunde zu verifizieren bzw. eine vergleichende Interpretation zulassen zu können. Insgesamt ist die Ergebnislage hinsichtlich dieser Assoziationen noch unzureichend. Auf den vorliegenden Ergebnissen aufbauend wäre besonders eine genauere Betrachtung der Funktionen des Verbalen und Allgemeinen Gedächtnisses vielversprechend.

Die Prüfung der hier assoziierten Marker auf einen Zusammenhang mit anderen psychotischen Krankheitsbildern stellt einen weiteren interessanten Ansatz dar. Durch Einführung des Konzepts der Endophänotypen und Findung von psychischen/ psychotischen Erkrankungen mit gemeinsamen Endophänotypen könnte sich zukünftig eine innovative Methodik zur Einteilung von psychiatrischen Syndromen aufbauen. In diesem Zusammenhang wäre auch die Untersuchung der hier assoziierten Marker auf eine Assoziation mit anderen psychischen/ psychotischen Erkrankungen relevant.

Anhand der WMS-R allein kann die Kognition als ein Gerüst vielfältiger, mentaler Strukturen nicht ausreichend charakterisiert werden. Daher sollten weitere neuropsychologische Testbatterien eingesetzt werden, die auch andere Einflussbereiche der Kognition, zum Beispiel Intelligenz oder räumliche

Gedächtnisfunktion, abfragen, um sich diesem Konstrukt deskriptiv und pathogenetisch zu nähern.

Darüber hinaus wäre auch eine Untersuchung zwischen den PNOC Polymorphismen und neurophysiologischen Endophänotypen denkbar.

Die Findung von an der Gedächtnisleistung beteiligten Markern und Proteinen kann in Zukunft eine Möglichkeit darstellen, pharmakologisch auf sie einzuwirken. Damit könnten beispielsweise Gedächtnisdefizite, die die Lebensqualität der Patienten stark beeinträchtigen, aus einem kausalen Therapieansatz heraus reduziert werden und zu einer Linderung des Leidensdrucks beitragen. Die Optimierung der Lebensqualität für Betroffene und Angehörige stellt das langfristige Ziel des wissenschaftlichen Anspruchs dar und wäre mit gezielter Weiterentwicklung der Molekulargenetik realisierbar.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Ätiopathogenese sowohl der Schizophrenie als auch der Kognition setzt sich aus multiplen Faktoren zusammen und ist nicht vollständig geklärt. In beiden Fällen gilt eine starke genetische Komponente jedoch als gesichert. Für die Schizophrenie konnte dies im Rahmen von Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien nachgewiesen werden, wobei in genomweiten Assoziations-, Kandidatengen- und Kopplungsstudien mindestens 108 assoziierte Genloci gefunden wurden. Aufgrund inkonsistenter Replizierbarkeit der Genloci stellt die Suche nach assoziierten Endophänotypen einen alternativen Ansatz bei der Entschlüsselung der Ätiopathogenese der Schizophrenie dar.

Das PNOC-Gen auf Chromosom 8p21 wird als Suszeptibilitätslocus für Schizophrenie diskutiert und kodiert unter anderem das Neuropeptid Nozizeptin, das die Regulation dopaminerger Neurotransmission in Arealen des frontalen Kortex beeinflusst. Damit ist es ebenfalls an kognitiven Prozessen wie Aufmerksamkeit, Lernen und Gedächtnis beteiligt. Im Hinblick auf die Erkrankung der Schizophrenie stellt die Gedächtnisfunktion einen häufig untersuchten Endophänotyp dar, der bei an Schizophrenie erkrankten Personen und ihren Verwandten häufig beeinträchtigt ist.

Diese Arbeit beruht auf einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, in der eine Assoziation von sieben Basenaustausch-Polymorphismen des PNOC-Gens zur Schizophrenie und kognitiven Phänotypen untersucht wurde. Die Polymorphismen wurden aus einer Stichprobe von 1831 kaukasischen Studienteilnehmern, unter denen sich 510 Schizophreniepatienten und 1321 gesunde Kontrollprobanden befanden, mittels des iPLEX-Verfahrens genotypisiert. Zur Untersuchung von Gedächtnisleistungen diente als neuropsychologisches Messinstrument die Wechsler Memory Scale-Revised (WMS-R).

Es fanden sich keine signifikanten Assoziationen zwischen den untersuchten Polymorphismen des PNOC-Gens und der Schizophrenie.

Bei der Analyse der Assoziation der Genotypen des Polymorphismus rs1563945 zur kognitiven Leistungsfähigkeit zeigten Träger des C/C Genotyps einen Trend zu besseren Leistungen im Leistungsaspekt Visuelles Gedächtnis und in den Untertests Visuelle Wiedergabe I und Blockspanne.

Ebenfalls zeigte sich in der Auswertung ein Trend zu besseren Leistungen beim A/A-Genotypen des Polymorphismus rs2614100 im Untertest Figurales Gedächtnis.

Signifikante Ergebnisse zeigten sich in der Auswertung des Polymorphismus rs904053. Hier waren der Genotypen A/A mit besseren Leistungen in den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis, Allgemeines Gedächtnis sowie in den Untertests Logisches Gedächtnis I und Visuelle Paarerkenkung assoziiert. Zudem zeigte sich ein Trend zu besseren Leistungen dieser Genotypen im Untertest Zahlenspanne.

Die Analyse der Haplotypen konnten diese Befunde in Teilen bestätigen. Es wurden ebenfalls Zusammenhänge für Kognition gefunden, die mit den Ergebnissen der Einzelanalyse der SNPs in Kongruenz stehen: Die im untersuchten LD-Block enthaltene Allelsequenz CCAG zeigte eine Assoziation für ein besseres Visuelles Gedächtnis, während die Sequenz ACAA einen Trend zu schlechteren Leistungen des Visuellen Gedächtnisses erbrachte.

Diese Ergebnisse deuten auf einen Zusammenhang der assoziierten Polymorphismen mit den neuropsychologischen Endophänotypen Verbales, Visuelles und Allgemeines Gedächtnis hin. Sie stimmen auch mit den gegenwärtigen Erkenntnissen über das PNOC-Gen überein, das als ein nicht unmittelbares Kandidatengen der Schizophrenie eingeschätzt wird. Um genauere Aussagen treffen zu können bedarf es jedoch Folgestudien, insbesondere im Bereich Kognition, mit weiteren Polymorphismen des PNOC-Gens an größeren Kohorten unterschiedlicher Ethnizitäten mit strikten Ein- und Ausschlusskriterien. Sollten mit der neurokognitiven Funktion des Gedächtnisses assoziierte Genvarianten identifiziert werden können, können auch die daraus resultierenden pathophysiologischen Signalwege auf molekularer Ebene erforscht werden, die wiederum potentielle Angriffspunkte für kausale Therapieformen darstellen könnten.

6 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abkürzung	Erläuterung
A	Adenin
AV	Abhängige Variable
C	Cytosin
CANTAB	Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery
CI	Confidence Interval
COMT	Catechol-O-Methyl-Transferase
CSF2RA	Colony Stimulating Factor, Receptor 2 Alpha
DISC1	Disrupted in schizophrenia 1- Gen
df	Degrees of freedom; Freiheitsgrade
DLPFC	Dorsolateraler präfrontaler Kortex
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders der American Psychiatric Association, fourth edition
DSM-V	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders der American Psychiatric Association, fifth edition
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
FHAM	Family History Assessment Module
G	Guanin
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
GPCR	G-Protein gekoppelter Rezeptor
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
HCL	Salzsäure
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10 th Edition
iPLEX	Increased Plexing Efficiency and Flexibility for Mass ARRAY
k.A.	keine Angabe
kb	Kilobasenpaare
LD	Linkage Disequilibrium, Kopplungsungleichgewicht
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight System
mbar	Millibar
ml	Milliliter
MMST	Mini-Mental-State-Test
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure

N/n	Anzahl
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NRGN	Neurogranin-Gen
OR	Odds Ratio
PANSS	Positive and Negative Symptom Scale
PCR	Polymerasekettenreaktion
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PNOC	Prepronozizeptin
RNA	Ribonukleinsäure
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	Standard Deviation, Standard Abweichung
SKID	Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV
SNP	Single-Nucleotid-Polymorphism
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
T	Thymin
TAQ	Thermophilus aquaticus
Tris	Tris(hydroxymethyl-)aminomethan, Trometamol
UV	Unabhängige Variable
VBM	Voxel based morphometry
WHO	World Health Organization
WMS-R	Wechsler Memory Scale, Revised
χ^2	Chi-square, Chi-Quadrat
y	Jahre
μM	Mikromol
μl	Mikroliter
μs	Mikrosekunde

7 LITERATURVERZEICHNIS

Abi-Dargham A, Moore H (2003): Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. *The Neuroscientist* 9 (5): 404-416

Adityanjee, Aderibigbe YA, Theodoridis D, Vieweg VR (1999): Dementia praecox to schizophrenia: the first 100 years. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 53 (4): 437-448

Albayrak Y, Akyol ES, Beyazyüz M, Baykal S, Kuloglu M (2015): Neurological soft signs might be endophenotype candidates for patients with deficit syndrome schizophrenia. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 11: 2825-2831

Allen AJ, Griss ME, Folley BS, Hawkins KA, Pearlson GD (2009): Endophenotypes in schizophrenia: a selective review. *Schizophrenia Research* 109 (1-3): 24-37

American Psychiatric Association (eds, 2000): Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed., DSM-IV-TR). Washington D.C.: American Psychiatric Association

American Psychiatric Association (eds., 2013): Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed., DSM- V). Washington D.C.: American Psychiatric Association

Amodeo P, López Méndez B, Guerrini R, Salvadori S, Temussi PA, Tancredi T (2000): Pain peptides. Solution structure of orphanin FQ2. *FEBS Letters* 473 (2): 157-160

Andero R (2015): Nociceptin and the nociceptin receptor in learning and memory. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 62: 45-50

Arjomand J, Evans CJ (2001): Differential splicing of transcripts encoding the orphanin FQ/ nociceptin precursor. *Journal of Neurochemistry* 77: 720-729

Ayuso-Mateos JL (2013): Global burden of schizophrenia in the year 2000. World Health Organization. Retrieved February 27, 2013

Baddeley A (2012): Working memory: theories, models, and controversies. *Annual Review of Psychology* 63: 1-29

Badner JA, Gershon ES (2002): Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 7 (4): 405-411

Barch DM, Ceaser A (2012): Cognition in schizophrenia: core psychological and neural mechanisms. *Trends in Cognitive Sciences* 16 (1): 27-34

Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ (2005): Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 21 (2): 263-265

- Birnbaum R, Weinberger DR (2013): Functional neuroimaging and schizophrenia: a view towards effective connectivity modeling and polygenic risk. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 15 (3): 279-289
- Blaveri E, Kalsi G, Lawrence J, Quested D, Moorey H, Lamb G, Kohen D, Shiwach R, Chowdhury U, Curtis D, McQuillin A, Gramoustianou ES, Gurling HM (2001): Genetic association studies of schizophrenia using the 8p21-22 genes: prepronociceptin (PNOC), neuronal nicotinic cholinergic receptor alpha polypeptide 2 (CHRNA2) and arylamine N-acetyltransferase 1 (NAT1). *European Journal of Human Genetics* 9 (6): 469-72
- Blouin JL, Dombroski BA, Nath SK, Lasseter VK, Wolyniec PS, Nestadt G, Thornquist M, Ullrich G, McGrath J, Kasch L, Lamacz M, Thomas MG, Gehrig C, Radhakrishna U, Snyder SE, Balk KG, Neufeld K, Swartz KI, DeMarchi N, Papadimitriou GN, Dikeos DG, Stefanis CN, Chakravarti A, Childs B, Housman DE, Kazazian HH, Antonarakis SE, Pulver AE (1998): Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21. *Nature Genetics* 20: 70-73
- Bodnar RJ (2013): Endogenous opiates and behavior: 2012. *Peptides* 50: 55-95
- Bora E, Fornito A, Radua J, Walterfang M, Seal M, Wood SJ, Yücel M, Velakoulis D, Pantelis C (2011): Neuroanatomical abnormalities in schizophrenia: a multimodal voxelwise meta-analysis and meta-regression analysis. *Schizophrenia Research* 127 (1-3): 46-57
- Bora E, Yucel M, Pantelis C (2009): Cognitive functioning in schizophrenia, schizoaffective disorder and affective psychoses: meta analytic study. *The British Journal of Psychiatry* 195 (6): 475-482
- Braff DL, Freedman R, Schork NJ, Gottesman II (2007): Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophrenia Bulletin* 33 (1): 21-32
- Brem AK, Ran K, Pascual-Leone A (2013): Learning and memory. *Handbook of clinical neurology* 116: 693-737
- Brown S, Barraclough B, Inskip H (2000): Causes of the excess mortality of schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry* 177: 212-217
- Brown AS (2011): The environment and susceptibility to schizophrenia. *Progress in Neurobiology* 93 (1): 23-58
- Brown AS, Derkits EJ (2010): Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. *The American Journal of Psychiatry* 167 (3): 261-280
- Brown AS, Susser ES (2002): In utero infection and adult schizophrenia. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* 8 (1): 51-57
- Brown GW, Monck EM, Carstairs GM, Wing JK (1962): Influence of family life on the course of schizophrenic illness. *British Journal of Preventive & Social Medicine* 16

(2): 55-68

Broome MR, Woolley JB, Tabraham P, Johns LC, Bramon E, Murray GK, Pariante C, McGuire PK, Murray RM (2005): What causes the onset of psychosis? *Schizophrenia Research* 79 (1): 23-34

Butzlaff RL, Hooley JM (1998): Expressed emotion and psychiatric relapse: a meta-analysis. *Archives of General Psychiatry* 55 (6): 547-552

Byrne M, Agerbo E, Bennedsen B, Eaton WW, Mortensen PB (2007): Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophrenia Research* 97: 51-59

Calabrese P (1997): Klinisch neuropsychologische Gedächtnisdiagnostik. Grundlage und Verfahren. In: Markowitsch HJ (1997): *Enzyklopädie der Psychologie*: 1052-1113. Verlag für Psychologie, Hogrefe, Göttingen

Calo G, Guerrini R, Rizzi A, Salvadori S, Regoli D (2000): Pharmacology of nociceptin and its receptor: a novel therapeutic target. *British Journal of Pharmacology* 129 (7): 1261-1283

Cardno AG, Marshall EJ, Coid B, Macdonald AM, Ribchester TR, Davies NJ, Venturi P, Jones LA, Lewis SW, Sham PC, Gottesman II, Farmer AE, McGuffin P, Reveley AM, Murray RM (1999): Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Archives of General Psychiatry* 56 (2): 162-168

Cavallini S, Marino S, Beani L, Bianchi C, Siniscalchi A (2003): Nociceptin inhibition of acetylcholine efflux from different brain areas. *NeuroReport* 14 (17): 2167-2170

Chan RC, Di X, McAlonan GM, Gong QY (2011): Brain anatomical abnormalities in high-risk individuals, first-episode, and chronic schizophrenia: an activation likelihood estimation meta-analysis of illness progression. *Schizophrenia Bulletin* 37 (1): 177-188

Chan RC, Gottesman II (2008): Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: a shooting star or a Northern star? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32 (5): 957-971

Cheng ATA (2002): Expressed emotion: a cross-culturally valid concept? *The British Journal of Psychiatry* 181 (6): 466-467

Chesterfield M, Janik J, Murphree E, Lynn C, Schmidt E, Callahan P (2006): Orphanin FQ/nociceptin is a physiological regulator of prolactin secretion in female rats. *Endocrinology* 147 (11): 5087-5093

Cropley VL, Fujita M, Innis RB, Nathan PJ (2006): Molecular imaging of the dopaminergic system and its association with human cognitive function. *Biological Psychiatry* 59 (10): 898-907

Daga PR, Zaveri NT (2012): Homology modeling and molecular dynamics simulations of the active state of the nociceptin receptor reveal new insights into

agonist binding and activation. *Proteins* 80 (8): 1948-1961

Davies G, Armstrong N, Bis JC, et al. (2015): Genetic contributions to variation in general cognitive function: a meta-analysis of genome-wide association studies in the CHARGE consortium ($N=53\,949$). *Molecular Psychiatry* 20 (2): 183-192

Davies G, Marioni RE, Liewald DC, et al. (2016): Genome-wide association study of cognitive functions and educational attainment in UK Biobank ($N=112\,151$). *Molecular Psychiatry* 21 (6): 758-767

DeFries JC, Plomin R, Vandenberg SG, Kuse AR (1981): Parent- offspring resemblance for cognitive abilities in the Colorado adoption project: Biological adoptive and control parents and 1- year- old children. *Intelligence* 5 (3): 245-277

Deserno L, Schlagenhauf F, Heinz A (2016): Striatal dopamine, reward, and decision making in schizophrenia. *Dialogues in Clinical Neuroscience*: 18 (1):77-89

Di Giannuario A, Pieretti S (2000): Nociceptin differentially affects morphin-induced dopamine release from the nucleus accumbens and nucleus caudate in rats. *Peptides* 21 (7): 1125-1130

Donica CL, Awwad HO, Thakker DR, Standifer KM (2013): Cellular mechanisms of nociceptin/orphanin FQ (N/OFQ) peptide (NOP) receptor regulation and heterologous regulation by N/OFQ. *Molecular Pharmacology* 83 (5): 907-918

Dudai Y (2004): The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology* 55: 51-86

Duncan J (2013): The structure of cognition: attentional episodes in mind and brain. *Neuron* 80 (1): 35-50

Dunham HW (1965): Community and schizophrenia. An epidemiological analysis. Wayne State University Press, Detroit

Ehret AM, Berking M (2013): DSM- IV und DSM- 5: Was hat sich tatsächlich verändert. *Verhaltenstherapie* 23: 258-266

Ellison-Wright I, Glahn DC, Laird AR, Thelen SM, Bullmore E (2008): The anatomy of first-episode and chronic schizophrenia: an anatomical likelihood estimation meta-analysis. *The American Journal of Psychiatry* 165 (8): 1015-1023

Evans RM, You H, Hameed S, Altier C, Mezghrani A, Bourinet E, Zamponi GW (2010): Heterodimerization of ORL1 and opioid receptors and its consequences for n-type calcium channel regulation. *The Journal of Biological Chemistry* 285: 1032-1040

Falkai P, Rossner MJ, Schulze TG, Hasan A, Brzózka MM, Malchow B, Honer WG, Schmitt A (2015): Kraepelin revisited: schizophrenia from degeneration to failed regeneration. *Molecular Psychiatry* 20 (6): 671-676

- Fantin M, Fischetti C, Trapella C, Morari M (2007): Nocistatin inhibits 5-hydroxytryptamine release in the mouse neocortex via presynaptic G_{i/o} protein linked pathways. *British Journal of Pharmacology* 152 (4): 549-555
- Feigenson KA, Kusnecov AW, Silverstein SM (2014): Inflammation and the two-hit-hypothesis of schizophrenia. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 38: 72-93
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1990): Mini- Mental- Status-Test (MMST). Beltz Testgesellschaft, Weinheim
- Forbes NF, Carrick LA, McIntosh AM, Lawrie SM (2009): Working memory in schizophrenia: a meta-analysis. *Psychological Medicine* 39 (6): 889-905
- Fowles DC (1992): Schizophrenia: diathesis-stress revisited. *Annual Review of Psychology* 43: 303-336
- Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, Higgins J, DeFelice M, Lochner A, Faggart M, Liu-Cordero SN, Rotimi C, Adeyemo A, Cooper R, Ward R, Lander ES, Daly MJ, Altshuler D (2002): The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 296: 2225-2229
- Gaebel W, Woelwer W (2010): Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Heft 50: Schizophrenie. Robert Koch Institut, Berlin
- Gallinat J, McMahon K, Kühn S, Schubert F, Schaefer M (2016): Cross-sectional Study of Glutamate in the Anterior Cingulate and Hippocampus in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*: 42 (2): 425-433
- Gavioli EC, Calo G (2013): Nociceptin/orphanin FQ receptor antagonists as innovative antidepressant drugs. *Pharmacology & Therapeutics* 140 (1): 10-25
- Geddes JR, Verdoux H, Takei N, Lawrie SM, Bovet P, Eagles JM, Heun R, McCreadie RG, McNeil TF, O'Callaghan E, Stöber G, Willinger U, Murray RM (1999): Schizophrenia and complications of pregnancy and labor: an individual patient data meta-analysis. *Schizophrenia Bulletin* 25 (3): 413-423
- Gejman PV, Sanders AR, Kendler KS (2011): Genetics of schizophrenia: new findings and challenges. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 12: 121-144
- Giesel FL, Hohmann N, Seidl U, Kress KR, Schönknecht P, Kauczor HU, Schröder J, Essig M (2005): Das Arbeitsgedächtnis bei Gesunden und bei Schizophrenen: Untersuchungen mit BOLD-fMRT. *Der Radiologe* 45: 144-152
- Glahn DC, Ragland JD, Abramoff A, Barrett J, Laird AR, Bearden CE, Velligan DI (2005): Beyond hypofrontality: a quantitative meta-analysis of functional neuroimaging studies of working memory in schizophrenia. *Human Brain Mapping*, 25 (1): 60-69
- Glahn DC, Laird AR, Ellison-Wright I, Thelen SM, Robinson JL, Lancaster JL, Bullmore E, Fox PT (2008): Meta-analysis of gray matter anomalies in schizophrenia:

application of anatomic likelihood estimation and network analysis. *Biological Psychiatry* 64 (9): 774-781

Goeldner C, Reiss D, Wichmann J, Kieffer BL, Ouagazzal AM (2009): Activation of nociceptin opioid peptide (NOP) receptor impairs contextual fear learning in mice through glutamatergic mechanisms. *Neurobiology of Learning and Memory* 91 (4): 393-401

Goghari VM, MacDonald AM, Sponheim SR (2014): Relationship between prefrontal grey matter volumes and working memory in schizophrenia: a family study. *Schizophrenia Research* 153 (0): 113-121

Gottesman II, Gould TD (2003): The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American Journal of Psychiatry* 160 (4): 636-645

Greenwood TA, Lazzeroni LC, Calkins ME, et al. (2016): Genetic Assessment of Additional Endophenotypes from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia Family Study. *Schizophrenia research* 170 (1): 30-40

Greenwood TA, Swerdlow NR, Gur RE, et al. (2013): Genome-Wide Linkage Analyses of 12 Endophenotypes for Schizophrenia From the Consortium on the Genetics of Schizophrenia. *The American journal of psychiatry* 170 (5): 10.1176/appi.ajp.2012.12020186

Gur RC, Gur RE (2013): Memory in health and in schizophrenia. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 15 (4): 399-410

Gurling HM, Kalsi G, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Sherrington R, Mankoo BS, Read T, Murphy P, Blaveri E, McQuillin A, Petursson H, Curtis D (2001): Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23. *The American Journal of Human Genetics* 68 (3): 661-673

Häfner H (2003): Gender differences in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 28: 17-54

Härting C, Calabrese P, Wagner T (1999): Neuropsychologische Abgrenzung von Alzheimerscher Demenz und Depression im revidierten Wechsler'schen Gedächtnistest. *Neurologische Rehabilitation* 5: 27-31

Haploview 4.2, <https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>

HapMap (2015): <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>

Härting C, Markowitsch HJ, Neufeld H, Calabrese P, Deisinger K, Kessler J (2000): Deutsche Adaption der revidierten Fassung der Wechsler Memory Scale (WMS- R). Hans Huber- Verlag, Göttingen

Harrison G, Hopper K, Craig T, Laska E, Siegel C, Wanderling J, Dube KC, Ganey K, Giel R, an der Heiden W, Holmberg SK, Janca A, Lee PW, Léon CA, Malhotra S, Marsella AJ, Nakane Y, Sartorius N, Shen Y, Skoda C, Thara R, Tsirkin SJ, Varma VK, Walsh D, Wiersma D (2001): Recovery from psychotic illness: a 15- and 25-year international follow-up study. *The British Journal of Psychiatry* 178: 506-517

Harrison PJ (2000): Postmortem studies in schizophrenia. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 2 (4): 349-357

Harrison PJ (2015): Recent genetic findings in schizophrenia and their therapeutic relevance. *Journal of Psychopharmacology* 29 (2): 85-96

Harrison PJ, Weinberger DR (2005): Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular Psychiatry* 10 (1): 40-68

Heinrichs RW, Zakzanis KK (1998): Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12 (3): 426-445

Helmstaedter C, Lendt M, Lux S (2001): VLMT- Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest. 1. Auflage

Hida H, Mouri A, Noda Y (2013): Behavioral phenotypes in schizophrenic animal models with multiple combinations of genetic and environmental factors. *Journal of pharmacological sciences* 121 (3): 185-191

Higgins J (1976): Effects of child rearing by schizophrenic mothers: a follow-up. *Journal of Psychiatric Research* 13: 1-9

Hilti LM, Hilti CC, Seifritz E, Cattapan-Ludewig K (2008): Sustained attentional performance of healthy first-degree relatives of schizophrenia patients. *Schizophrenia Research* 98: 22-23

Hiramatsu M, Inoue K (1999): Effects of nocistatin on nociceptin-induced impairment of learning and memory in mice. *European Journal of Pharmacology* 367 (2): 151-155

Holliday EG, Mowry BJ, Nyholt DR (2008): A reanalysis of 409 European-Ancestry and African American schizophrenia pedigrees reveals significant linkage to 8p23.3 with evidence of locus heterogeneity. *American Journal of Medical Genetics* 147B: 1080-1088

Holmans PA, Riley B, Pulver AE, Owen MJ, Wildenauer DB, Gejman PV, Mowry BJ, Laurent C, Kendler KS, Nestadt G, Williams NM, Schwab SG, Sanders AR, Nertney D, Mallet J, Wormley B, Lasseter VK, O'Donovan MC, Duan J, Albus M, Alexander M, Godard S, Ribble R, Liang KY, Norton N, Maier W, Papadimitriou G, Walsh D, Jay M, O'Neill A, Lerer FB, Dikeos D, Crowe RR, Silverman JM, Levinson DF (2009): Genomewide linkage scan of schizophrenia in a large multicenter pedigree sample using single nucleotide polymorphisms. *Molecular Psychiatry* 14 (8): 786-795

Harada M, Minami T, Ito S, Okuda-Ashitaka (2018): Development of a novel

photoaffinity probe for labeling nocistatin receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 501 (2): 514-519

Holzman PS, Kringlen E, Levy DL, Proctor LR, Haberman SJ, Yasillo NJ (1977): Abnormal-pursuit eye movements in schizophrenia. Evidence for a genetic indicator. *Archives of General Psychiatry* 34 (7): 802-805

Howes O, McCutcheon R, Stone J (2015): Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. *Journal of Psychopharmacology*: 29 (2): 97-115

Hu W, MacDonald ML, Elswick DE, Sweet RA (2015): The glutamate hypothesis of schizophrenia: evidence from human brain tissue studies. *Annals of the New York Academy of Science* 1338 (1): 38-57

Hubbard L, Tansey KE, Rai D, et al. (2016): Evidence of Common Genetic Overlap Between Schizophrenia and Cognition. *Schizophrenia Bulletin*: 42 (3): 832-842

Imai K, Harada S, Kawanishi Y, Tachikawa H, Okubo T, Suzuki T (2001): Association analysis of polymorphisms in the prepronociceptin gene and schizophrenia. *Journal of Human Genetics* 46 (8): 442-447

Ingvar DH, Franzén G (1974): Distribution of cerebral activity in chronic schizophrenia. *The Lancet* 2 (7895): 1484-1486

Jablensky A (2010): The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 12 (3): 271-287

Janoutová J, Janácková P, Serý O, Zeman T, Ambroz P, Kovalová M, Varechová K, Hosák L, Jirík V, Janout V (2016): Epidemiology and risk factors of schizophrenia. *Neuro Endocrinology Letters* 37 (1): 1-8

Jordanovski D, Herwartz C, Pawlowski A, Taute S, Frommolt P, Steger G (2013): The Hypoxia-Inducible Transcription Factor ZNF395 Is Controlled by I κ B Kinase-Signaling and Activates Genes Involved in the Innate Immune Response and Cancer. Mossman KL, ed. *PLoS ONE*: 8(9): e74911

Kalkstein S, Hurford I, Gur RC (2010): Neurocognition in schizophrenia. *Current Topics in Behavioral Neurosciences* 4: 373-390

Karch S, Leicht G, Giegling I, Lutz J, Kunz J, Buselmeier M, Hey P, Spörl A, Jäger L, Meindl T, Pogarell O, Möller HJ, Hegerl U, Rujescu D, Mülert C (2009): Inefficient neural activity in patients with schizophrenia and nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: evidence from a working memory task. *Journal of Psychiatric Research* 43 (15): 1185-1194

Kawahara Y, Hesselink MB, van Scharrenburg G, Westerink BH (2004): Tonic inhibition by orphanin FQ/nociceptin of noradrenaline neurotransmission in the amygdala. *European Journal of Pharmacology* 485 (1-3): 197-200

- Kay SR, Fiszbein A, Opler LA (1987): The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 13 (2): 261-276
- Kendler KS, Myers JM, O'Neill FA, Martin R, Murphy B, MacLean CJ, Walsh D, Straub RE (2000): Clinical features of schizophrenia and linkage to chromosomes 5q, 6p, 8p, and 10p in the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families. *The American Journal of Psychiatry* 157 (3): 402-408
- Keshavan MS, Diwadkar VA, Montrose DM, Rajarethinam R, Sweeney JA (2005): Premorbid indicators and risk for schizophrenia: a selective review and update. *Schizophrenia Research* 79 (1): 45-57
- Keshavan MS, Tandon R, Boutros NN, Nasrallah HA (2008): Schizophrenia "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. *Schizophrenia Research* 106 (2-3): 89-107
- Keshavan MS, Nasrallah HA, Tandon R (2011): Moving ahead with the schizophrenia concept: from the elephant to the mouse. *Schizophrenia Research* 127 (1-3): 3-13
- Khan MS, Boileau I, Kolla N, Mizrahi R (2018): A systematic review of the role of the nociceptin receptor system in stress, cognition, and reward: relevance to schizophrenia. *Translational Psychiatry*. *Translational Psychiatry* 8: 38. *PMC*. Web. 16 Aug. 2018
- Kinney DK, Teixeira P, Hsu D, Napoleon SC, Crowley DJ, Miller A, Hyman W, Huang E (2009): Relation of schizophrenia prevalence to latitude, climate, fish consumption, infant mortality, and skin color: a role for prenatal vitamin d deficiency and infections? *Schizophrenia Bulletin* 35 (3): 582-595
- Kirkbride JB, Morgan C, Fearon P, Dazzan P, Murray RM, Jones PB (2007): Neighbourhood-level effects on psychoses: re-examining the role of context. *Psychological Medicine* 37 (10): 1413-1425
- Klosterkötter J, Schultze-Lutter F, Ruhrmann S (2008): Kraepelin and psychotic prodromal conditions. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 258, Supplement 2: 74-84
- Kotlar AV, Mercer KB, Zwick ME, Mullen JG (2015): New discoveries in schizophrenia genetics reveal neurobiological pathways: a review of recent findings. *European Journal of Medical Genetics* 58 (12): 704-714
- Kristiansen LV, Huerta I, Beneyto M, Meador-Woodruff JH (2007): NMDA receptors and schizophrenia. *Current Opinion in Pharmacology* 7 (1): 48-55
- Kuzmin A, Madjid N, Johansson B, Terenius L, Ogren SO (2009): The nociceptin system and hippocampal cognition in mice: a pharmacological and genetic analysis. *Brain Research* 1305: Supplement: S7-S19
- Lam M, Trampush JW, Yu J, et al. (2017): Large-scale Cognitive GWAS Meta-Analysis Reveals Tissue-Specific Neural Expression and Potential Nootropic Drug Targets. *Cell reports* 21 (9): 2597-2613

- Lencz T, Knowles E, Davies G, et al. (2014): Molecular Genetic Evidence for Genetic Overlap between General Cognitive Ability and Risk for Schizophrenia: A Report from the Cognitive Genomics Consortium (COGENT). *Molecular psychiatry*: 19 (2):168-174
- Lencz T, Morgan TV, Athanasiou M, Dain B, Reed CR, Kane JM, Kucherlapati R, Malhotra AK (2007): Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 12 (6): 572-580
- Lewis DA, Moghaddam B (2006): Cognitive dysfunction in schizophrenia: convergence of gamma-aminobutyric acid and glutamate alterations. *Archives of Neurology* 63 (10): 1372-1376
- Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM, Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Paunio T, Lönngqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonarakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman JM, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Jazin E, Zoega T, Helgason T (2003): Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *The American Journal of Human Genetics* 73 (1): 34-48
- Linden DE (2007): The working memory networks of the human brain. *Neuroscientist* 13 (3): 257-267
- Lutty K, Do T, Maidment NT (2001): Orphanin FQ/nociceptin attenuates motor stimulation and changes in the nucleus accumbens extracellular dopamine induced by cocaine in rats. *Psychopharmacology* 154 (1): 1-7
- Maatz A, Hoff P, Angst J (2015): Eugen Bleuler's schizophrenia—a modern perspective. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 17 (1): 43-49
- Maidment NT, Chen Y, Tan AM, Murphy NP, Leslie FM (2002): Rat ventral midbrain dopamine neurons express the orphanin FQ/ nociceptin receptor ORL-1. *Neuroreport* 13: 1137-1140
- Maia TV, Frank MJ (2017): An Integrative Perspective on the Role of Dopamine in Schizophrenia. *Biological psychiatry*: 81 (1):52-66
- Majumdar S, Grinnell S, Le Rouzic V, Burgman M, Polikar L, Ansonoff M, Pinter J, Pan Y, Pasternak GW (2011): Truncated G protein-coupled mu opioid receptor MOR-1 splice variants are targets for highly potent opioid analgesics lacking side effects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (49): 19778-19783
- Maksymetz J, Moran SP, Conn PJ (2017): Targeting metabotropic glutamate receptors for novel treatments of schizophrenia. *Molecular Brain* 10: 15

- Mallimo EM, Kusnecov AW (2013): The role of orphanin FQ/nociceptin in neuroplasticity: relationship to stress, anxiety and neuroinflammation. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 7: 173
- Manabe T, Noda Y, Mamiya T, Katagiri H, Houtani T, Nishi M, Noda T, Takahashi T, Sugimoto T, Nabeshima T, Takeshima H (1998): Facilitation of long-term potentiation and memory in mice lacking nociceptin receptors. *Nature* 394 (6693): 577-581
- Marsman A, van den Heuvel MP, Klomp DW, Kahn RS, Luijten PR, Hulshoff Pol HE (2013): Glutamate in schizophrenia: a focused review and meta-analysis of 1H-MRS studies. *Schizophrenia Bulletin* 39 (1): 120-129
- Maynard TM, Sikich L, Lieberman JA, LaMantia AS (2001): Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 27 (3): 457-476
- McDonald C, Grech A, Touloupoulou T, Schulze K, Chapple B, Sham P, Walshe M, Sharma T, Sigmundsson T, Chitnis X, Murray RM (2002): Brain volumes in familial and non-familial schizophrenic probands and their unaffected relatives. *American Journal of Medical Genetics* 114 (6): 616-625
- McGrath JJ, Féron FP, Burne TH, Mackay-Sim A, Eyles DW (2003): The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia: a review of recent developments. *Annals of Medicine* 35 (2): 86-93
- McGrath J, Saha S, Welham J, El Saadi O, MacCauley C, Chant D (2004): A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BioMed Central Ltd.* 2:13 (<http://www.biomedcentral.com/1741-7015/2/13>)
- McGrath J, Saha S, Chant D, Welham J (2008): Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiologic Reviews* 30: 67-76
- Meador-Woodruff JH, Healy DJ (2000): Glutamate receptor expression in schizophrenic brain. *Brain Research Interactive*, v.31: 288-294
- Meunier JC, Mollereau C, Toll L, Suaudeau C, Moisand C, Alvinerie P, Butour JL, Guillemot JC, Ferrara P, Monsarrat B, Mazarguil H, Vassart G, Parmentier M, Costentin J (1995): Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor. *Nature* 377 (6549): 532-535
- Meyer JM, Nasrallah HA (2009): Medical illness and schizophrenia. 2. Auflage. American Psychiatric Pub., Washington D.C.
- Miller B, Messias E, Miettinen J, Alaraisänen A, Järvelin MR, Koponen H, Räsänen P, Isohanni M, Kirkpatrick B (2011): Meta-analysis of paternal age and schizophrenia risk in male versus female offspring. *Schizophrenia Bulletin* 37 (5): 1039-1047
- Minami T, Okuda-Ashitaka E, Nishiuchi Y, Kimura T, Tachibana S, Mori H, Ito S (1998): Anti-nociceptive responses produced by human putative counterpart of nocistatin. *British Journal of Pharmacology* 124: 1016-1018

- Mollereau C, Simons MJ, Soularue P, Liners F, Vassart G, Meunier JC, Parmentier M (1996): Structure, tissue distribution, and chromosomal localization of the prepronociceptin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (16): 8666-8670
- Moran P, Stokes J, Marr J, Bock G, Desbonnet L, Waddington J, O'Tuathaigh C (2016): Gene × Environment Interactions in Schizophrenia: Evidence from Genetic Mouse Models. *Neural Plasticity*, 2016, 2173748. <http://doi.org/10.1155/2016/2173748>
- Mossaheb N, Wiesegeger G, Amminger GP, Kasper S, Tauscher J (2006): Früherkennung und Frühintervention der Schizophrenie. *Der Nervenarzt* 77 (1): 23-34
- Mullis KB (1990): The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American* 262 (4): 36-43
- Murray RM, Lewis SW (1987): Is schizophrenia a neurodevelopmental disorder? *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)* 295 (6600): 681-682
- Nadel L, Hardt O (2011): Update on memory systems and processes. *Neuropsychopharmacology* 36 (1): 251-273
- Narayanan S, Lam H, Carroll FI, Lutfy K (2004): Orphanin FQ/nociceptin suppresses motor activity through an action along the mesoaccumbens axis in rats. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 29 (2): 116-123
- National Center for Biotechnology Information NCBI (03/2016) PNOC: Genomic context, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5368>
- Neal CR Jr, Owens CE, Taylor LP, Hoversten MT, Akil H, Watson SJ Jr (2003): Binding and GTPγS autoradiographic analysis of preproorphanin precursor peptide products at the ORL1 and opioid receptors. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 25 (4): 233-247
- Ng MY, Levinson DF, Faraone SV, et al. (2009): Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 14 (8): 774-785
- Niemann H, Sturm W, Thöne-Otto AIT, Willmes K (Hg.) (2008): California Verbal Learning Test (CVLT). Deutsche Adaptation, Frankfurt am Main: Pearson Assessment & Information GmbH
- Nieratschker V, Nöthen MM, Rietschel M (2010): New Genetic Findings in Schizophrenia: Is there Still Room for the Dopamine Hypothesis of Schizophrenia? *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 4: 23
- Noda Y, Mamiya T, Manabe T, Nishi M, Takeshima H, Nabeshima T (2000): Role of nociceptin systems in learning and memory. *Peptides* 21: 1063-1069

- Nöthen MM, Rietschel M, Propping P, Maier W (2004): Fortschritte in der Ursachenforschung affektiver und schizophrener Störungen. *Deutsches Ärzteblatt* 101 (49): 3343-3347
- Norton CS, Neal CR, Kumar S, Akil H, Watson SJ (2002): Nociceptin/orphanin FQ and opioid receptor-like receptor mRNA expression in dopamine systems. *The Journal of Comparative Neurology* 444 (4): 358-368
- Nothacker HP, Reinscheid RK, Mansour A, Henningsen RA, Ardati A, Monsma FJ Jr, Watson SJ, Civelli O (1996): Primary structure and tissue distribution of the orphanin FQ precursor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (16): 8677-8682
- O'Callaghan C, Shine JM, Lewis SJ, Andrews-Hanna JR, Irish M (2015): Shaped by our thoughts--a new task to assess spontaneous cognition and its associated neural correlates in the default network. *Brain and Cognition* 93: 1-10
- Oeth P, Bealieu M, Park C, Kosman D, del Mistro G, van den Boom D, Jurinke C (2005): iPlex™ Assay: Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassArray, System Through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators, Sequenom Application Note, Doc. No. 8876-006, R01; CO 050154
- Okuda-Ashitaka E, Ito S (2015): Nocistatin: milestone of one decade of research. *Current Pharmaceutical Design* 21 (7): 868-884
- Okuda-Ashitaka E, Minami T, Tsubouchi S, Kiyonari H, Iwamatsu A, Noda T, Handa H, Ito S (2012): Identification of NIPSNAP1 as a nocistatin-interacting protein involving pain transmission. *The Journal of Biological Chemistry* 287: 10403-10413
- Ouagazzal AM (2015): Chapter twelve – nociceptin/orphanin FQ modulation of learning and memory. *Vitamins & Hormones* 97: 323-345
- Owen MJ, Sawa A, Mortensen PB (2016): Schizophrenia. *The Lancet* 388 (10039): 86-97
- Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC (2004): The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Molecular Psychiatry* 9 (1): 14-27
- Palaniyappan L, Maayan N, Bergman H, Davenport C, Adams CE, Soares-Weiser K (2015): Voxel-based morphometry for separation of schizophrenia from other types of psychosis in first episode psychosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015, 8: CD011021
- Park S, Gooding DC (2014): Working memory impairment as an endophenotypic marker of a schizophrenia diathesis. *Schizophrenia Research Cognition* 1 (3): 127-136
- Patel KR, Cherian J, Gohil K, Atkinson S (2014): Schizophrenia: Overview and Treatment Options. *Pharmacy and Therapeutics* 39 (9): 638-645
- Pantelis C, Yücel M, Wood SJ, Velakoulis D, Sun D, Berger G, Stuart GW, Yung A,

- Phillips L, McGorry PD (2005): Structural brain imaging evidence for multiple pathological processes at different stages of brain development in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 31 (3): 672-696
- Paulzen M, Schneider F (2014): Schizophrenie und andere psychotische Störungen im DSM- 5. *Der Nervenarzt* 85 (59): 533-542
- Patterson PH (2009): Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal models. *Behavioural Brain Research* 204 (2): 313-321
- Pirnia T, Woods RP, Hamilton LS, Lyden H, Joshi SH, Asarnow RF, Nuechterlein KH, Narr KL (2015): Hippocampal dysfunction during declarative memory encoding in schizophrenia and effects of genetic liability. *Schizophrenia Research* 161 (2-3): 357-366
- PLINK v1.07, <http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/dist/plink-doc-1.07.pdf>
- Pulver AE (2000): Search for schizophrenia susceptibility genes. *Biological Psychiatry* 47 (3): 221-230
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ, Sham PC (2007): PLINK: a toolset for whole-genome association and population- based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics* 81: 559-575
- QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook (2005): 2nd Edition, Quiagen
- R Development Core Team (2011): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3- 900051-07- 0, URL <http://www.R-project.org/>
- Rapoport JL, Giedd JN, Gogtay N (2012): Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. *Molecular Psychiatry* 17 (12): 1228-1238
- Reinscheid RK (2006): The Orphanin FQ/ nociceptin receptor as a novel drug target in psychiatric disorders. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets* 5 (2): 219-224
- Reinscheid RK, Nothacker HP, Civelli O (2000): The orphanin FQ/nociceptin gene: structure, tissue distribution of expression and functional implications obtained from knockout mice. *Peptides* 21 (7): 901-906
- Reinscheid RK, Nothacker HP, Bourson A, Ardati A, Henningsen RA, Bunzow JR, Grandy DK, Langen H, Monsma FJ Jr, Civelli O (1995): Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. *Science* 270 (5237): 792-794
- Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI Jr, Schuckit MA, Begleiter H (1995): Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 19 (4): 1018-1023

- Riley B, Kendler KS (2006): Molecular genetic studies of schizophrenia. *European Journal of Human Genetics* 14 (6): 669-680
- Riley B, McGuffin P (2000): Linkage and associated studies of schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics (Semin Med Genet)* 97: 23-44
- Ripke S, Neale BM, Corvin A, et al. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2014): Biological Insights From 108 Schizophrenia-Associated Genetic Loci. *Nature* 511 (7510): 421-427
- Rittmannsberger H (2012): The diagnosis "Schizophrenia": past, present and future. *Psychiatria Danubina* 24 (4): 408-414
- Robbins TW, James M, Owen AM, Sahakian BJ, McInnes L, Rabbit P (1994): Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB): A Factor Analytic Study of Large Sample of Normal Elderly Volunteers. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 5 (5): 266-281
- Roberts BM, Seymour PA, Schmidt CJ, Williams GV, Castner SA (2010): Amelioration of ketamine-induced working memory deficits by dopamine D1 receptor agonists. *Psychopharmacology* 210 (3): 407-18
- Rodriguez-Sanchez JM, Crespo-Facorro B, Gonzalez-Blanch C, Perez-Iglesias R, Vazquez-Barquero JL; PAFIP Group Study (2007): Cognitive dysfunction in first-episode psychosis: the processing-speed hypothesis. *The British Journal of Psychiatry, Supplement* 51: 107-110
- Rosoklija G, Toomayan G, Ellis SP, Keilp J, Mann JJ, Latov N, Hays AP, Dwork AJ (2000) Structural abnormalities of subicular dendrites in subjects with schizophrenia and mood disorders: preliminary findings. *Archives of General Psychiatry* 57 (4): 349-356
- Ross CA, Margolis RL, Reading SA, Pletnikov M, Coyle JT (2006): Neurobiology of schizophrenia. *Neuron* 52 (1): 139-53
- Rossi GC, Mathis JP, Pasternak GW (1998): Analgesic activity of orphanin FQ2, murine prepro-orphanin FQ141-157 in mice. *NeuroReport* 9 (6): 1165-1168
- Sabri O, Erkwow R, Schreckenberger M, Cremerius U, Schulz G, Dickmann C, Kaiser HJ, Steinmeyer EM, Sass H, Buell U (1997): Regional cerebral blood flow and negative/positive symptoms in 24 drug-naive schizophrenics. *The Journal of Nuclear Medicine* 38 (2): 181-188
- Saha S, Chant D, McGrath J (2007): A systematic review of mortality in schizophrenia: is the differential mortality gap worsening over time? *Archives of General Psychiatry* 64 (10): 1123-1131
- Sandin J, Georgieva J, Schött PA, Ögren SO, Terenius L (1997): Nociceptin/orphanin FQ microinjected into hippocampus impairs spatial learning in rats. *European Journal of Neuroscience* 9 (1): 194-197

Schaid DJ, Rowland CM, Tines DE, Jacobson RM, Poland GA (2002): Score tests for association between traits and haplotypes when linkage phase is ambiguous. *The American Journal of Human Genetics* 70 (2): 425-434

Schennach R, Riedel M, Obermeier M, Spellmann I, Musil R, Jäger M, Schmauss M, Laux G, Pfeiffer H, Naber D, Schmidt LG, Gaebel W, Klosterkötter J, Heuser I, Maier W, Lemke MR, Rütger E, Klingberg S, Gastpar M, Möller HJ (2015): What are residual symptoms in schizophrenia spectrum disorder? Clinical description and 1-year persistence within a naturalistic trial. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 265 (2): 107-116

Schmitt A, Rujescu D, Gawlik M, Hasan A, Hashimoto K, Iceta S, Jarema M, Kambeitz J, Kasper S, Keiser D, Kornhuber J, Koutsouleris N, Lanzenberger R, Malchow B, Saoud M, Spies M, Stöber G, Thibaut F, Riederer P, Falkai P; WFSBP Task Force on Biological Markers (2016): Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Criteria for biomarkers and endophenotypes of schizophrenia part II: Cognition, neuroimaging and genetics. *The World Journal of Biological Psychiatry* 17 (6): 406-428

Schröder W, Lambert DG, Ko MC, Koch T (2014): Functional plasticity of the N/OFQ-NOP receptor system determines analgesic properties of NOP receptor agonists. *British Journal of Pharmacology* 171 (16): 3777-3800

Seidman LJ, Faraone SV, Goldstein JM, Kremen WS, Horton NJ, Makris N, Toomey R, Kennedy D, Caviness VS, Tsuang MT (2002): Left hippocampal volume as a vulnerability indicator for schizophrenia: a magnetic resonance imaging morphometric study of nonpsychotic first-degree relatives. *Archives of General Psychiatry* 59 (9): 839-849

Selten J, van der Ven E, Rutten BPF, Cantor-Graae E (2013): The Social Defeat Hypothesis of Schizophrenia: An Update. *Schizophrenia Bulletin* 39 (6): 1180-1186

Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW (2001): A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 49 (1-2): 1-52

Shieh K, Pan J (2001): Effects of orphanin FQ on central dopaminergic neuronal activities and prolactin secretion. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 280 (3): 705-712

Shields J, Gottesman II (1972): Cross-national diagnosis of schizophrenia in twins. The heritability and specificity of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 27 (6): 725-730

Soares-Weiser K, Maayan N, Bergman H, Davenport C, Kirkham AJ, Grabowski S, Adams CE (2015): First-rank symptoms for schizophrenia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015, 1: CD010653

Sorensen HJ, Mortensen EL, Reinisch JM, Mednick SA (2009): Association between prenatal exposure to bacterial infection and risk of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 35 (3): 631-637

Squire LR, Wixted JT (2011): The cognitive neuroscience of human memory since H.M. *Annual Review of Neuroscience* 34: 259-288

Squire LR, Zola SM (1996) Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (24): 13515-13522

Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, et al. (2009): Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* 460 (7256): 744-747

Steiner J, Walter M, Glanz W, Sarnyai Z, Bernstein HG, Vielhaber S, Kästner A, Skalej M, Jordan W, Schiltz K, Klingbeil C, Wandinger KP, Bogerts B, Stoecker W (2013): Increased prevalence of diverse N-methyl-D-aspartate glutamate receptor antibodies in patients with an initial diagnosis of schizophrenia: specific relevance of IgG NR1a antibodies for distinction from N-methyl-D-aspartate glutamate receptor encephalitis. *JAMA Psychiatry* 70 (3): 271-278

Stilo SA, Murray RM (2010): The epidemiology of schizophrenia: replacing dogma with knowledge. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 12 (3): 305-315

Stone JM, Erlandsson K, Arstad E, Squassante L, Teneggi V, Bressan RA, Krystal JH, Ell PJ, Pilowsky LS (2008): Relationship between ketamine-induced psychotic symptoms and NMDA receptor occupancy: a [(123)I]CNS-1261 SPET study. *Psychopharmacology* 197 (3): 401-8

Stone JM, Morrison PD, Pilowsky LS (2007): Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia – a synthesis and selective review. *Journal of Psychopharmacology* 21 (4): 440-452

Suarez BK, Duan J, Sanders AR, Hinrichs AL, Jin CH, Hou C, Buccola NG, Hale N, Weilbaecher AN, Nertney DA, Olincy A, Green S, Schaffer AW, Smith CJ, Hannah DE, Rice JP, Cox NJ, Martinez M, Mowry BJ, Amin F, Silverman JM, Black DW, Byerley WF, Crowe RR, Freedman R, Cloninger CR, Levinson DF, Gejman PV (2006): Genomewide Linkage Scan of 409 European-Ancestry and African American Families with Schizophrenia: Suggestive Evidence of Linkage at 8p23.3-p21.2 and 11p13.1-q14.1 in the Combined Sample. *The American Journal of Human Genetics* 78 (2): 315-333

Tamminga CA, Buchanan RW, Gold JM (1998): The role of negative symptoms and cognitive dysfunction in schizophrenia outcome. *International Clinical Psychopharmacology* 13, Supplement 3: 21-26

Tandon R (2013): Schizophrenia and other psychotic disorders in DSM-5. *Clinical Schizophrenia & Related Psychoses* 7 (1): 16-19

Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA (2008): Schizophrenia, “Just the Facts” What we know in 2008. 2. Epidemiology and Etiology. *Schizophrenia Research* 102, Nr.1-3: 1-18

Tariq S, Nurulain SM, Tekes K, Adeghate E (2013): Deciphering intracellular localization and physiological role of nociceptin and nocistatin. *Peptides* 43: 174-183

Tessner KD, Mittal V, Walker EF (2011): Longitudinal study of stressful life events and daily stressors among adolescents at high risk for psychotic disorders. *Schizophrenia Bulletin* 37 (2): 432-411

Toll L, Bruchas MR, Calo G, Cox BM, Zaveri NT (2016): Nociceptin/Orphanin FQ receptor structure, signaling, ligands, functions, and interactions with opioid systems. *Pharmacological Reviews* 68 (2): 419-457

Trampush JW, Yang MLZ, Yu J, et al. (2017): GWAS meta-analysis reveals novel loci and genetic correlates for general cognitive function: a report from the COGENT consortium. *Molecular Psychiatry* 22 (3): 336-345

Tsai G, Coyle JT (2002): Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 42: 165-179

Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV (2001): Genes, environment and schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry* 178, Supplement 40: S18-S24

Uniprot (2018): Q13519 (PNOC_HUMAN). www.uniprot.org. Zugriff am 14.08.2018

Vogeley K, Tepest R, Pfeiffer U, Schneider-Axmann T, Maier W, Honer WG, Falkai P (2001): Right frontal hypergyria differentiation in affected and unaffected siblings from families multiply affected with schizophrenia: a morphometric mri study. *The American Journal of Psychiatry* 158 (3): 494-496

Vollenweider FX, Leenders KL, Oye I, Hell D, Angst J (1997): Differential psychopathology and patterns of cerebral glucose utilisation produced by (S)- and (R)-ketamine in healthy volunteers using positron emission tomography (PET). *European Neuropsychopharmacology* 7 (1): 25-38

Waddington JL, Corvin AP, Donohoe G, O'Tuathaigh CMP, Mitchell KJ, Gill M (2007): Functional genomics and schizophrenia: Endophenotypes and mutant models. *Psychiatric Clinics of North America* 30 (3): 365-399

Walker E, Mittal V, Tessner K (2008): Stress and the hypothalamic pituitary adrenal axis in the developmental course of schizophrenia. *Annual Review of Clinical Psychology* 4: 189-216

Weinberger DR, McClure RK (2002): Neurotoxicity, neuroplasticity, and magnetic resonance imaging morphometry: what is happening in the schizophrenic brain? *Archives of General Psychiatry* 59 (6): 553-558

Wender PH, Rosenthal D, Kety SS, Schulsinger F, Welner J (1974): Crossfostering. A research strategy for clarifying the role of genetic and experiential factors in the etiology of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 30 (1): 121-128

WHO (2007): International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision from <http://apps.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/>

- Whyte MC, McIntosh AM, Johnstone EC, Lawrie SM (2005): Declarative memory in unaffected adult relatives of patients with schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia Research* 78 (1): 13-26
- Witkin JM, Statnick MA, Rorick-Kehn LM, Pintar JE, Ansonoff M, Chen Y, Tucker RT, Ciccocioppo R (2014): The biology of nociceptin/orphanin fq (N/OFQ) related to obesity, stress, anxiety, mood, and drug dependence. *Pharmacology & Therapeutics* 141 (3): 283-299
- Wittchen H-U, Zaudig M, Fydrich T (1997): Strukturiertes Klinisches Interview für DSM- IV (SKID- I und SKID- II). Hogrefe Verlag, Göttingen
- Wobrock T, Ecker UK, Scherk H, Schneider-Axmann T, Falkai P, Gruber O (2009): Cognitive impairment of executive function as a core symptom of schizophrenia. *World Journal of Biological Psychiatry* 10 (4 Pt2): 442-451
- Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET (2000): Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry* 157 (1): 16-25
- Xie GX, Ito E, Maruyama K, Suzuki Y, Sugano S, Sharma M, Petruck C, Palmer PP (1999): The promotor region of human prepro-nociceptin gene and its regulation by cyclic AMP and steroid hormones. *Gene* 238 (2): 427-436
- Xuei X, Flury-Wetherill L, Almasy L, Bierut L, Tischfield J, Schuckit M, Nurnberger JI Jr, Foroud T, Edenberg HJ (2008): Association analysis of genes encoding the nociceptin receptor (OPRL1) and its endogenous ligand (PNOC) with alcohol or illicit drug dependence. *Addiction Biology* 13 (1): 80-87
- Yu TP, Fein J, Phan T, Evans CJ, Xie CW (1997): Orphanin FQ inhibits synaptic transmission and long-term potentiation in rat hippocampus. *Hippocampus* 7 (1): 88-94
- Zobel A, Maier W (2004): Endophänotypen – ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Der Nervenarzt* 75 (3): 205-214

8 DANKSAGUNG

Für die Ermöglichung der Durchführung dieser Dissertation am Universitätsklinikum für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München danke ich seinem ehemaligen sowie seinem jetzigen Leiter, den Herren Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller und Prof. Dr. med. Peter Falkai.

Besonders danke ich Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die Bereitstellung dieses Promotionsthemas und die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, sowie Frau PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling für die kompetente Betreuung und Unterstützung bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit.

Überaus bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann für ihre freundliche Art, die stete und rasche Hilfe mit konstruktiven Anmerkungen und Anregungen bei jeglichen Fragen und die korrigierende Durchsicht, die zur Vollendung notwendig war.

Frau Dr. rer. biol. hum. Heike Konnerth danke ich herzlich für die Einarbeitung und das Nahebringen der Thematik, sowie die gute Betreuung während des praktischen Teils der Arbeit. Der gesamten Arbeitsgruppe für molekulare und klinische Neurobiologie gilt ein großer Dank für die konstruktive Zusammenarbeit.

Allen Studienteilnehmern, ohne die diese Arbeit nicht hätte durchgeführt werden können, danke ich für ihr Mitwirken.

9 LEBENSLAUF

10 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Autenrieth, Zora Valerie Young-Mi

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Der Einfluss von Polymorphismen des Prepronozizeptin-Gens auf
Schizophrenie und den kognitiven Endophänotyp Gedächtnisleistung

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient
und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen
sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der
Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder
in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen
Grades eingereicht wurde.

Berlin, 26.07.2019

Zora Valerie Young-Mi Autenrieth

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin